

**Entwicklung einer NIR-spektroskopischen Methode zur  
quantitativen Analyse patientenindividualisierter  
Zytostatikazubereitungen**

**Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
„doctor rerum naturalium“ (Dr. rer. nat.)**

**vorgelegt dem Rat der Fakultät für Biowissenschaften  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

**von Henry Billing**

**geboren am 12.01.1988 in Dessau**

**Gutachter**

1. PD Dr. Andreas Seeling, FSU Jena
2. Prof. Dr. Gerhard Scriba, FSU Jena
3. Prof. Dr. Gerald Steiner, TU Dresden

**Tag der Verteidigung:** 17.12.2019

**Meiner Familie**

## Inhaltsverzeichnis

<i>Abkürzungsverzeichnis</i>	IV
<i>Abbildungsverzeichnis</i>	VI
<i>Tabellenverzeichnis</i>	X
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2 Zielstellung</b>	<b>10</b>
2.1 Auswahl geeigneter Wirkstoffe	11
<b>3 Theoretische Grundlagen</b>	<b>15</b>
3.1 NIR-Spektroskopie	15
3.1.1 Physikalisch-chemische Grundlagen	15
3.1.2 Nahinfrarot-Spektrometer	19
3.1.2.1 Scanning-Grating-NIR-Spektrometer	19
3.1.2.2 FT-NIR-Spektrometer	20
3.2 Chemometrie	23
3.2.1 Multivariate Datenauswertung mittels Partial Least Square Regression	24
3.2.2 Entwicklung einer quantitativen NIRS-Methode	27
3.2.3 Beurteilung der Güte einer NIRS-Methode	31
<b>4 Material und Methoden</b>	<b>35</b>
4.1 Wirkstoffe	35
4.1.1 Zytostatika	35
4.1.2 Monoklonale Antikörper	36
4.1.3 Trägerlösungen	37
4.2 Spektrometer	37
4.2.1 Scanning-Grating-NIR-Spektrometer	37
4.2.2 FT-NIR-Spektrometer	38



## Inhaltsverzeichnis

4.3	Probenerstellung und Messplan	39
4.3.1	Methodenerstellung	41
4.3.2	Methodenvalidierung	42
4.3.3	Infusionsbeutel-Messvorrichtung	43
<b>5</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>46</b>
5.1	Voruntersuchungen	46
5.1.1	Spektroskopie mit Scanning-Grating-NIR-Spektrometer	46
5.1.2	Spektroskopie mit FT-NIR-Spektrometer	49
5.1.3	Zusammenfassung der Voruntersuchungen	53
5.2	Entwicklung quantitativer NIRS-Methoden	54
5.2.1	NIRS-Methode zur Quantifizierung von Gemcitabin in NaCl 0,9 %	54
5.2.1.1	Beurteilung der Güte der Methode für Gemcitabin	58
5.2.1.2	Validierung der Methode für Gemcitabin	60
5.2.1.3	Vergleich mit einer bereits vorhandenen Methode für Gemcitabin in NaCl 0,9 %	63
5.2.2	NIRS-Methode zur Quantifizierung von Carboplatin in Glucose 5 %	65
5.2.2.1	Beurteilung der Güte der Methode für Carboplatin	68
5.2.2.2	Validierung der Methode für Carboplatin	69
5.2.3	NIRS-Methode zur Quantifizierung von Bevacizumab in NaCl 0,9 %	71
5.2.3.1	Beurteilung der Güte der Methode für Bevacizumab	73
5.2.3.2	Validierung der Methode für Bevacizumab	75
5.2.4	NIRS-Methode zur Quantifizierung von Cetuximab in NaCl 0,9 %	77
5.2.4.1	Beurteilung der Güte der Methode für Cetuximab	79
5.2.4.2	Validierung der Methode für Cetuximab	80
5.3	Zusammenfassung und Beurteilung der Kalibrierungs- und Validierungsergebnisse	82
5.4	Testmessungen mit der entwickelten Infusionsbeutel-Messvorrichtung	86
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>89</b>

## Inhaltsverzeichnis

<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>93</b>
<b>8</b>	<b>Anhang</b>	<b>99</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ASTM.....	American Society for Testing and Materials
BAK .....	Bundesapothekerkammer
BGW .....	Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege
BMG .....	Bundesministerium für Gesundheit
CMR .....	kanzerogen, mutagen und reproduktionstoxisch
DEHP.....	Diethylhexylphthalat
EMA.....	European Medicines Agency
EVA .....	Ethylenvinylacetat
FAM .....	Fertigarzneimittel
FIR.....	Fernes Infrarot
GefStoffV .....	Gefahrstoffverordnung
HPLC .....	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
ICH .....	International Council for Harmonisation
InGaAs.....	Indium-Gallium-Arsenid
LLOQ .....	Lower Limit Of Quantification
LOOCV .....	Leave One Out Cross Validation
MAK.....	monoklonaler Antikörper
MIR .....	Mittleres Infrarot
MLR.....	Multiple Linear Regression
MSC.....	Multiplikative Streukorrektur
NIR .....	Nahinfrarot
NIRS .....	Nahinfrarot-Spektroskopie
PCR.....	Principal Component Regression
PE.....	Polyethylen
PIC/S .....	Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme
PLSR .....	Partial Least Square Regression
PP.....	Polypropylen
PVC .....	Polyvinylchlorid
RMSECV .....	Root Mean Square Error of Cross Validation
RMSEP.....	Root Mean Square Error of Prediction

## Abkürzungsverzeichnis

RPD .....	Residual Prediction Deviation
SD .....	Standard Deviation
SEP .....	Standard Error of Prediction
SNV .....	Standard Normal Variate
TRGS.....	Technische Regeln für Gefahrstoffe
UV-Vis .....	Ultraviolettes bis sichtbares Licht
WHO.....	Weltgesundheitsorganisation

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Gesamtanzahl Zytostatikazubereitungen pro Jahr am UKD (2002 – 2015) .....	3
Abb. 2: Prozentuale Verteilung der Zubereitungen auf ambulanten/tagesklinischen und stationären Bereich am UKD (2002; 2008 und 2015) .....	3
Abb. 3: Leitlinie der BAK „Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B“ (BAK 2012) .....	5
Abb. 4: Strukturformeln von Calciumfolinat (a), Irinotecan (b), Cytarabin (c), Gemcitabin (d), Oxaliplatin (e), Paclitaxel (f), Carboplatin (g) und Cisplatin (h) .....	13
Abb. 5: Energiediagramm eines anharmonischen Oszillators (entnommen und angepasst von: Salzer et al. (a)).....	17
Abb. 6: Messprinzipien der NIRS: Transmission (a), diffuse Transmission (b), diffuse Reflexion (c) und diffuse Transflexion (d) (Bracher et al. 2016) .....	19
Abb. 7: Vereinfachte Darstellung eines Scanning-Grating-Spektrometers (entnommen von Andersen et al. 2013) .....	20
Abb. 8: Michelson-Interferometer (entnommen von Salzer et al. (b)) .....	21
Abb. 9: Konstruktive (a) und destruktive (b) Interferenz von zwei kohärenten Wellen .....	22
Abb. 10: Darstellung der Spektraldaten und Referenzwerte als Datenpunktmatrizen .....	24
Abb. 11: Schematische Darstellung der PLS und beteiligter Matrizen (entnommen von Kessler 2007: 113) .....	26
Abb. 12: Ablauf der Entwicklung einer quantitativen NIRS-Methode .....	31

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 13: Zweitafelbild von Transflexionsstempel (a) und Messglas (b) für die Messungen mit dem Apo-Ident NIR-Spektrometer.....	38
Abb. 14: Darstellung der Unterplatte (a) und Oberplatte (b) der Infusionsbeutel-Messvorrichtung als Dreitafelbild .....	44
Abb. 15: Infusionsbeutel-Messvorrichtung; Vorderansicht Ober- und Unterplatte (a), Vorderansicht zusammengesetzt (b), Vorderansicht mit eingespanntem Infusionsbeutel (c), Strahlengang des Bruker Vertex FT-NIR mit Fuß der Küvettenhalterung (d) .....	45
Abb. 16: Absorptionsspektren der FAM, gemessen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer.....	46
Abb. 17: Absorptionsspektren von Paclitaxel (0,3 – 6,0 mg/ml) in NaCl 0,9 %, gemessen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer.....	47
Abb. 18: Absorptionsspektren der FAM, gemessen mit Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer.....	49
Abb. 19: Absorptionsspektren von Paclitaxel (0,3 – 6,0 mg/ml) in NaCl 0,9 %, gemessen mit Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer.....	50
Abb. 20: Erste Ableitung + Subtraktion einer Geraden ( $6.102 - 5.450 \text{ cm}^{-1}$ ) der Absorptionsspektren von Paclitaxel (0,3 – 6,0 mg/ml) in NaCl 0,9 %, gemessen mit Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer.....	51
Abb. 21: Testspektren von Gemcitabin im Konzentrationsbereich 0,401 – 40,1 mg/ml (keine Datenvorbehandlung) .....	55
Abb. 22: Transmission von leeren Küvetten aus verschiedenen Gläsern (Hellma GmbH & Co. KG 2018) .....	56
Abb. 23: Testspektren von Gemcitabin (0,401 – 39,3 mg/ml) nach Subtraktion einer Geraden im Bereich $7.500,0 - 5.450 \text{ cm}^{-1}$ .....	58
Abb. 24: RMSECV (a) und RMSEP (b) in mg/ml bezogen auf die Anzahl der verwendeten PLS-Faktoren für die Vorhersagemethode der Gemcitabin-Konzentrationswerte (blaue Markierung: von OPUS®-Software vorgeschlagener PLS-Faktor) .....	59
Abb. 25: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Gemcitabin in NaCl 0,9 %...	61

Abb. 26: Korrelationsdiagramm zwischen den Referenzwerten und den gemessenen Werten für die NIRS-Methode für Gemcitabin in NaCl 0,9 % .....	62
Abb. 27: NIR-Spektrum von reinem Ethanol; (Bruker Optik GmbH 2011) .....	64
Abb. 28: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Gemcitabin (Akzeptanzlimits = $\pm 15$ %).....	65
Abb. 29: Testspektren von Carboplatin im Konzentrationsbereich 0,0994 – 9,94 mg/ml (keine Datenvorbehandlung) .....	67
Abb. 30: Testspektren von Carboplatin (0,0994 – 9,94 mg/ml) nach Subtraktion eines konstanten Offsets im Bereich $7.357 - 5.558 \text{ cm}^{-1}$ und $4.835 - 4.517 \text{ cm}^{-1}$ .....	67
Abb. 31: RMSECV (a) und RMSEP (b) in mg/ml bezogen auf die Anzahl der verwendeten PLS-Faktoren für die Vorhersagemethode der Carboplatin-Konzentrationswerte (blaue Markierung: von OPUS®-Software vorgeschlagener PLS-Faktor) .....	69
Abb. 32: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Carboplatin .....	70
Abb. 33: Korrelationsdiagramm zwischen den Referenzwerten und den gemessenen Werten für die NIRS-Methode für Carboplatin .....	70
Abb. 34: Testspektren von Bevacizumab im Konzentrationsbereich 0,25 – 25,0 mg/ml (keine Datenvorbehandlung) .....	72
Abb. 35: Testspektren von Bevacizumab (0,25 – 25,0 mg/ml) ohne Datenvorbehandlung im Bereich $7.454 - 5.570 \text{ cm}^{-1}$ und $4.837 - 4.249 \text{ cm}^{-1}$ .....	73
Abb. 36: RMSECV (a) und RMSEP (b) in mg/ml bezogen auf die Anzahl der verwendeten PLS-Faktoren für die Vorhersagemethode der Bevacizumab-Konzentrationswerte (blaue Markierung: von OPUS®-Software vorgeschlagener PLS-Faktor) .....	74
Abb. 37: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Bevacizumab .....	76
Abb. 38: Korrelationsdiagramm zwischen den Referenzwerten und den gemessenen Werten für die NIRS-Methode für Bevacizumab .....	76

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 39: Testspektren von Cetuximab im Konzentrationsbereich 0,2 – 5,0 mg/ml (keine Datenvorbehandlung) .....	78
Abb. 40: Testspektren von Cetuximab (0,2 – 5,0 mg/ml) nach Subtraktion einer Geraden im Bereich 6.102 – 5.450 cm <sup>-1</sup> .....	78
Abb. 41: RMSECV (a) und RMSEP (b) in mg/ml bezogen auf die Anzahl der verwendeten PLS-Faktoren für die Vorhersagemethode der Cetuximab-Konzentrationswerte (blaue Markierung: von OPUS®-Software vorgeschlagener PLS-Faktor) .....	80
Abb. 42: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Cetuximab.....	81
Abb. 43: Korrelationsdiagramm zwischen den Referenzwerten und den gemessenen Werten für die NIRS-Methode für Cetuximab .....	81
Abb. 44: Häufigkeitsverteilung der Konzentration von Gemcitabin in 8.229 hergestellten Zubereitungen am UKD (2010 – 2016).....	84
Abb. 45: Häufigkeitsverteilung der Konzentration von Carboplatin in 6.875 hergestellten Zubereitungen am UKD (2010 – 2016).....	84
Abb. 46: Häufigkeitsverteilung der Konzentration von Bevacizumab in 6.736 hergestellten Zubereitungen am UKD (2010 – 2016).....	85
Abb. 47: Häufigkeitsverteilung der Konzentration von Cetuximab in 6.262 hergestellten Zubereitungen am UKD (2010 – 2016).....	85
Abb. 48: Spektren eines Freeflex-Infusionsbeutels (Glucose 5 %) nach mehrmaligem Einspannen in die Infusionsbeutel-Messvorrichtung, gemessen mit dem Bruker Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer .....	86
Abb. 49: NIR-Spektren der FAM (nach Subtraktion des Hintergrundspektrums), gemessen durch Polyolefin-Folie mit dem Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer .....	87



## Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Die am häufigsten verarbeiteten Wirkstoffe der Zytostatika-Abteilung am UKD (2010 – 2015) .....	12
Tab. 2: Spektrum der elektromagnetischen Wellen .....	16
Tab. 3: Proben für die Voruntersuchungen.....	41
Tab. 4: Proben für die Methodenerstellung.....	42
Tab. 5: Proben für die Methodvalidierung.....	43
Tab. 6: Ergebnisse der Kreuzvalidierung für die Voruntersuchungen mit dem Apo-Ident NIR-Spektrometer.....	48
Tab. 7: Ergebnisse der Kreuzvalidierung für die Voruntersuchungen mit dem Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer .....	52
Tab. 8: Prozentuale Abweichungen der RMSECV von den Mittelwerten der Wirkstoffkonzentrationen am UKD hergestellter Zubereitungen (2010 – 2013).....	53
Tab. 9: Ergebnisse der Kreuzvalidierungen für die Entwicklung einer optimalen NIRS-Methode für Gemcitabin.....	57
Tab. 10: Kurzübersicht der Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung für Gemcitabin in NaCl 0,9 % .....	59
Tab. 11: Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung der NIRS-Methode für Gemcitabin in NaCl 0,9 % von Le et al. 2014.....	63
Tab. 12: Kurzübersicht der Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung für Carboplatin.....	68
Tab. 13: Kurzübersicht der Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung für Bevacizumab .....	73
Tab. 14: Kurzübersicht der Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung für Cetuximab.....	79

## Tabellenverzeichnis

Tab. 15: Vergleich der Ergebnisse von Testmessungen durch Infusionsbeutelmaterial und Ergebnisse der Methodenentwicklung .....	88
---	----

## 1 Einleitung

Krebs stellt der Weltgesundheitsorganisation (WHO) zufolge eine der häufigsten und tödlichsten Erkrankungen weltweit dar. Im Jahr 2012 gab es ca. 14 Millionen Neuerkrankungen und 8,2 Millionen Todesfälle durch Krebs (Stewart und Wild 2014). Auch in Deutschland zählen laut Angaben des Statistischen Bundesamts bösartige Neubildungen nach Krankheiten des Herzkreislaufsystems zu den zweithäufigsten Todesursachen (Statistisches Bundesamt 2014b). Jährlich sterben in Deutschland ca. 230.000 Menschen an Tumorerkrankungen, wobei Brustkrebs bei Frauen, Prostata- und Lungenkrebs bei Männern zu den häufigsten Gründen zählen (WHO 2014). Im Jahr 2014 wurden bundesweit ungefähr 1,5 Millionen Menschen aufgrund einer Tumorerkrankung stationär in einem Krankenhaus behandelt (Statistisches Bundesamt 2014a). Da die Inzidenz mit steigendem Alter zunimmt (Stewart und Wild 2014), ist, bedingt durch den demographischen Wandel und die steigende Lebenserwartung, zukünftig mit einem weiteren Anstieg an Neuerkrankungen zu rechnen.

Neben der Bestrahlung und der chirurgischen Entfernung des Tumors zählt die Chemotherapie zu den drei Therapieoptionen bei der Behandlung von Tumoren. Abgeleitet von ihrem Wirkmechanismus sind die bei der Chemotherapie eingesetzten Zytostatika kanzerogen, mutagen und reproduktionstoxisch wirkende Stoffe (CMR-Stoffe), weshalb sie entsprechend § 2 GefStoffV (Gefahrstoffverordnung) als Gefahrstoffe gelten. Auch die in den letzten Jahren immer häufiger zum Einsatz kommenden monoklonalen Antikörper (MAK) haben sich als reproduktionstoxisch und zum Teil als mutagen erwiesen (Halsen und Krämer 2011). Aufgrund dieser Einstufung sind zum Schutz der Beschäftigten bei dem Umgang mit diesen Wirkstoffen besondere Sicherheitsmaßnahmen einzuhalten (siehe Technische Regeln für Gefahrstoffe 525 (BAuA 2014) oder Themenheft „Zytostatika im Gesundheitsdienst“ der BGW (Heinemann 2018)).

Da die meisten Wirkstoffe für jeden Patienten spezifisch dosiert werden, das heißt, die zu applizierende Dosis wird auf Grundlage der Körperoberfläche oder des Körpergewichtes berechnet, werden die Infusions- oder Injektionslösungen für jeden Patienten individuell hergestellt. Arbeitsschritte wie die Rekonstitution eines Lyophilisats oder die Verdünnung einer konzentrierten Stammlösung mit einer

## Einleitung

Trägerlösung bergen ein großes Risiko, sich durch unbeabsichtigte Freisetzung der konzentrierten Wirkstoffe zu kontaminieren. Dies kann durch Verspritzen, Verschütten sowie durch Staub- oder Aerosolbildung geschehen. Da das Gefahrenpotential für das Pflegepersonal in onkologisch-hämatologischen Stationen oder Praxen sehr groß ist, hat sich die zentrale Herstellung von patientenindividuellen Zytostatikazubereitungen in Apotheken etabliert.

Am Universitätsklinikum Dresden (UKD) werden von der Klinik-Apotheke jährlich ca. 35.000 Zytostatikazubereitungen hergestellt, mit stetig steigender Tendenz (Abb. 1). Die täglichen Herstellungszahlen liegen im Jahr 2015 im Durchschnitt bei ca. 140 Zubereitungen, wobei die Anzahl an einzelnen Tagen über 200 Stück liegen kann. Abbildung 2 zeigt, dass 2015 55,8 % der Tumorkranken am UKD ambulant oder tagesklinisch behandelt wurden. Der Anteil ambulanter und tagesklinischer Therapien hat sich dabei seit 2002 (44,3 %) um 11,5 % gesteigert. Untersuchungen, die Einfluss auf das Therapieschema oder die Dosierung haben, wie zum Beispiel die Beurteilung des allgemeinen Zustands der Patienten, die Bestimmung des Blutbilds oder der Serumkreatininwerte, erfolgen somit erst am Behandlungstag. Dadurch ist in vielen Fällen eine Herstellung der applikationsfertigen Parenteralia im Voraus nicht möglich. Auch viele Wirkstoffe, die eine Haltbarkeit von weniger als 24 Stunden aufweisen, erschweren eine Vorabherstellung. Der Großteil der Zubereitungen kann somit nur am Therapietag hergestellt werden. Um möglichst viele Patienten an einem Tag behandeln zu können und die Wartezeit jedes Einzelnen zu reduzieren, müssen die Zytostatika-Zubereitungen somit schnellst möglich nach Eintreffen der ärztlichen Anforderung in der Klinik-Apotheke hergestellt und ausgeliefert werden.

## Einleitung

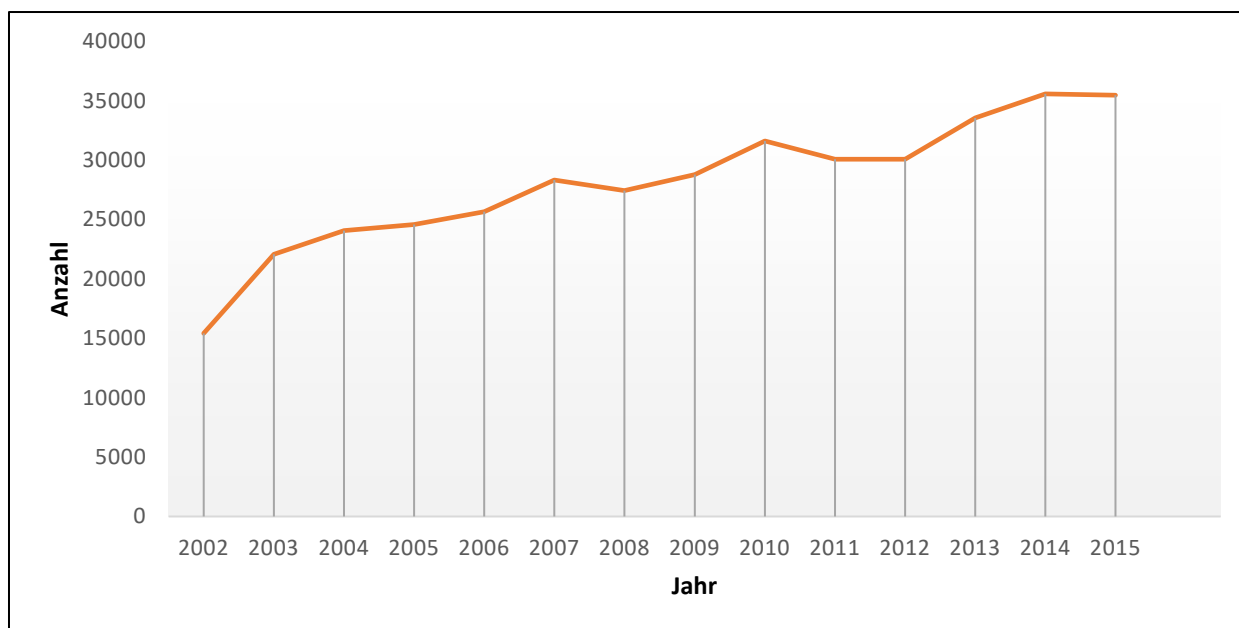


Abb. 1: Gesamtanzahl Zytostatikazubereitungen pro Jahr am UKD (2002 – 2015)

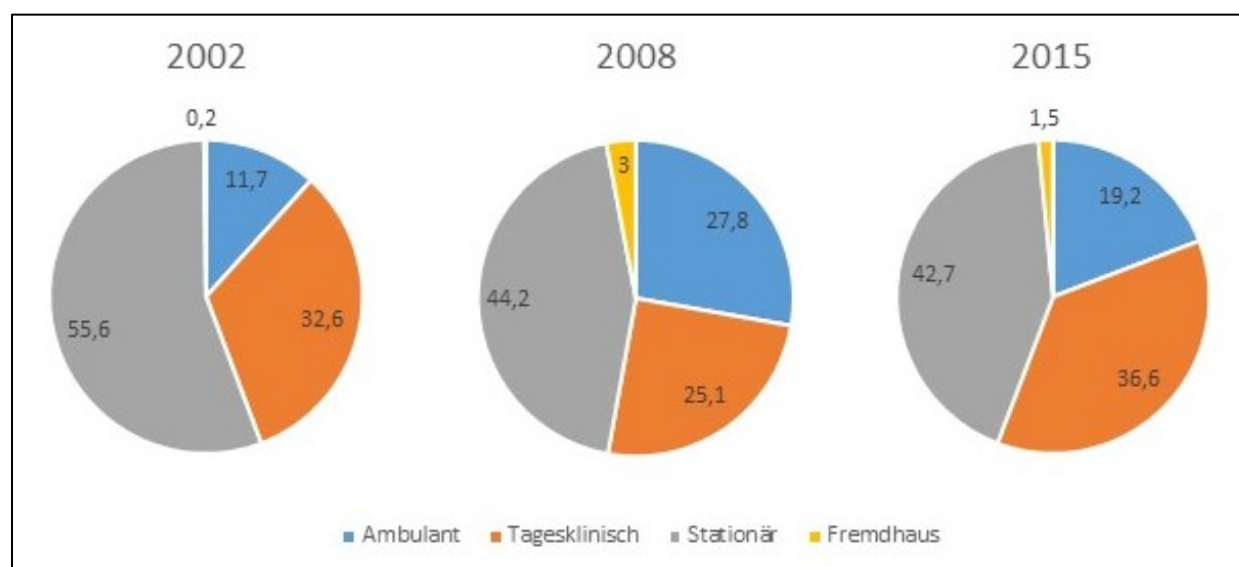


Abb. 2: Prozentuale Verteilung der Zubereitungen auf ambulanten/tagesklinischen und stationären Bereich am UKD (2002; 2008 und 2015)

Für die Herstellung parenteraler Arzneimittel in Apotheken sind zur Sicherung der ordnungsgemäßen Qualität die anerkannten pharmazeutischen Regeln zu beachten. In der von der Bundesapothekerkammer (BAK) herausgegebenen Leitlinie „Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B“ (BAK 2012) wird allen Anforderungen Rechnung getragen.

## Einleitung

Sie ist auf Grundlage der nachfolgend genannten Regelwerke erstellt worden und umfasst von der Prüfung der ärztlichen Verordnung, der eigentlichen Herstellung, der Dokumentation bis zur Endprüfung und Freigabe alle relevanten Arbeitsschritte (Abb. 3).

- BGW Themenheft „Zytostatika im Gesundheitsdienst – Informationen zur sichereren Handhabung von Zytostatika (Heinemann 2018)
- TRGS 525 „Gefahrstoffe in Einrichtungen der medizinischen Versorgung“ (BAuA 2014)
- Europäisches Arzneibuch 8. Ausgabe 2014, Monographien und Kapitel 2.6.1
- United States Pharmacopeia 35, Monographie <797> „Pharmaceutical compounding – sterile preparations“ (The United States Pharmacopeial Convention 2012)
- PIC/S Leitfaden “Guide to good practices for the preparation of medicinal products in healthcare establishments” (PIC/S Secretariat 2014)
- Apothekenbetriebsordnung, insbesondere §§ 4a, 6, 7 und 35 (BMG 2018)

## Einleitung

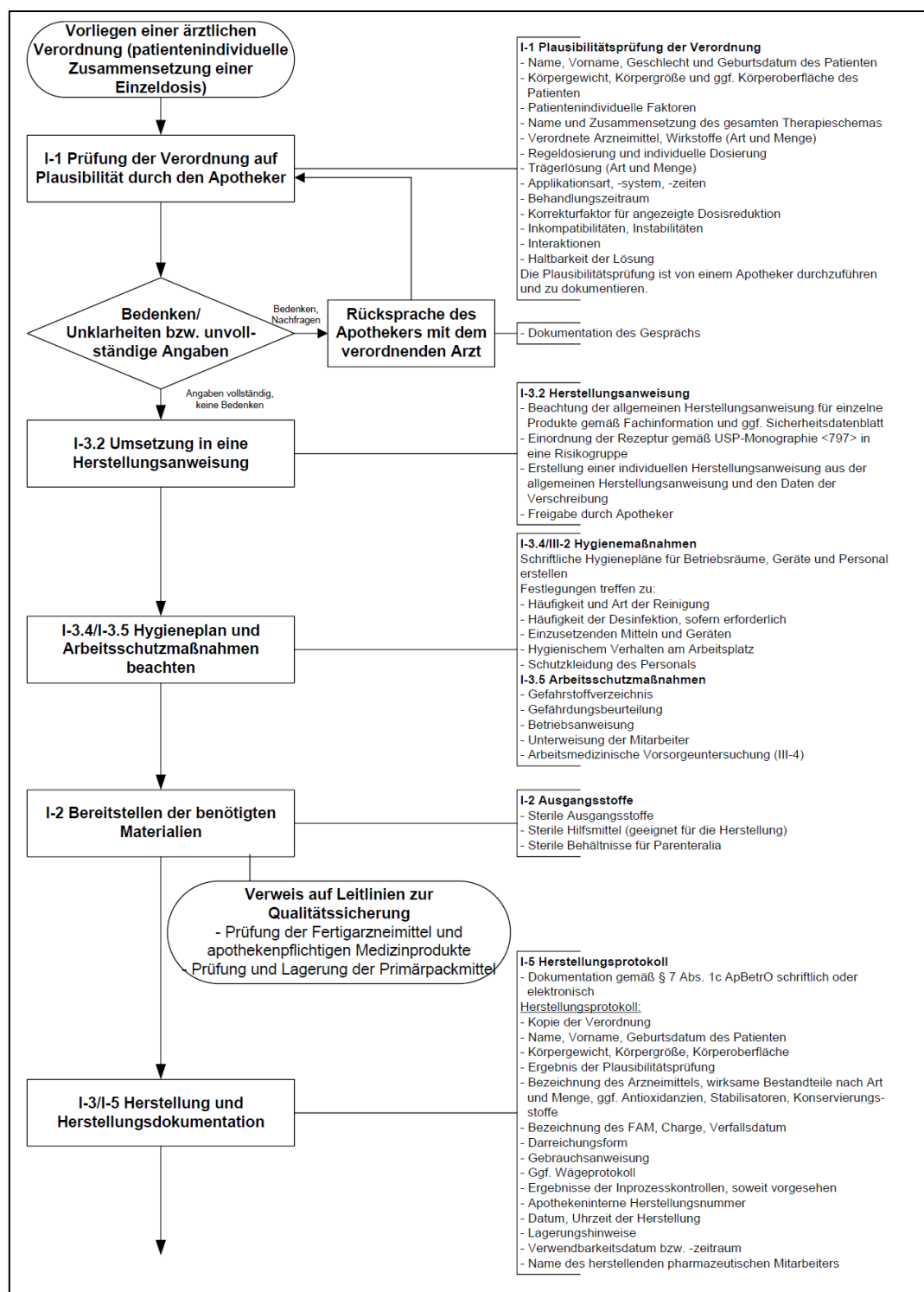


Abb. 3: Leitlinie der BAK „Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B“ (BAK 2012)

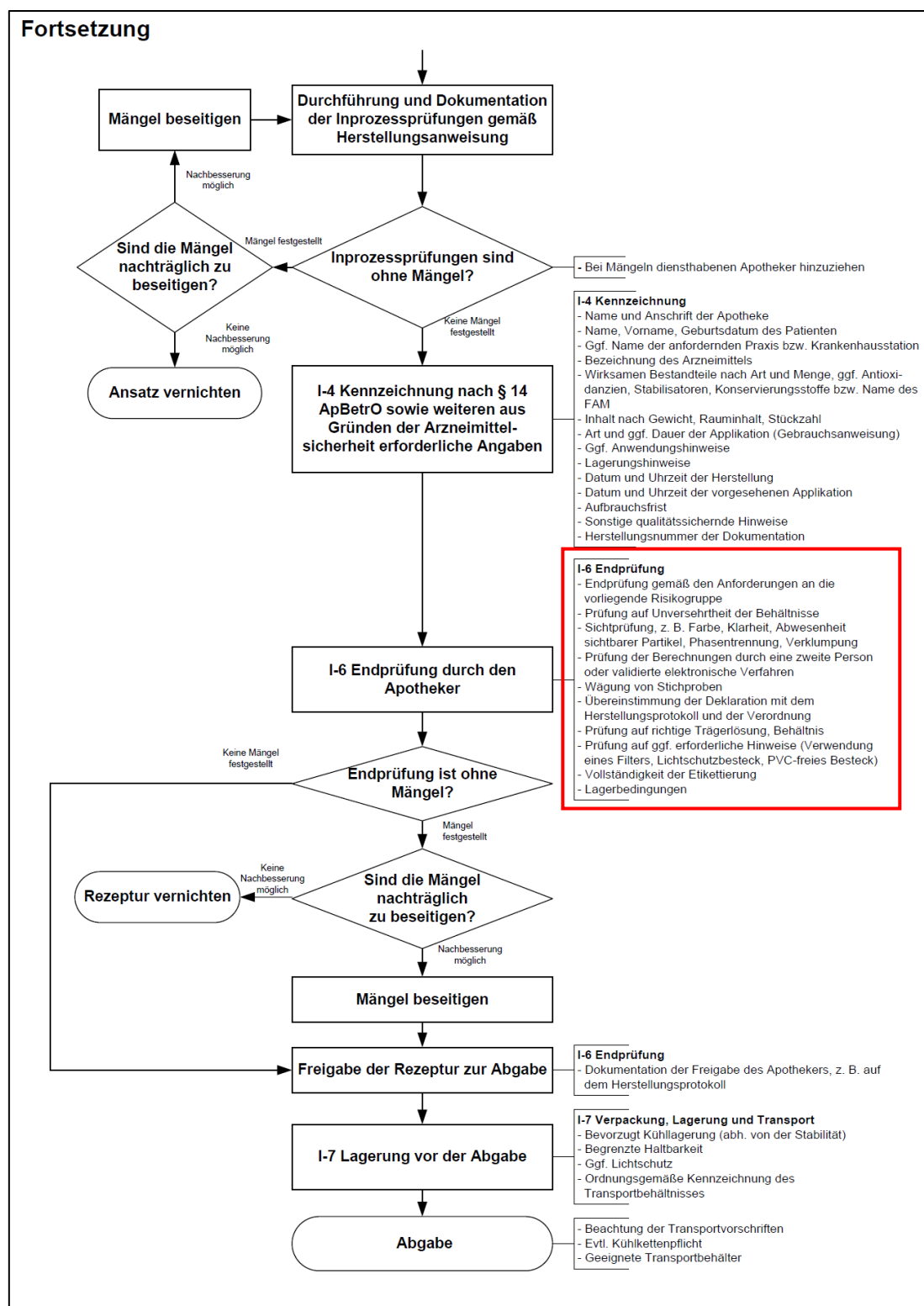


Abb. 3 (Fortsetzung): Leitlinie der BAK „Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B“ (BAK 2012)

Die Endprüfung und Freigabe durch den Apotheker ist, wie in Abb. 3 dargestellt, der letzte qualitätssichernde Schritt, um Mängel zu erkennen und zu beseitigen. Die Prüfung beinhaltet neben der Kontrolle gesetzlicher Vorgaben (korrekte Etikettierung



## Einleitung

und Kennzeichnung, vollständige Herstellungsdocumentation, etc.) eine rein organoleptische Prüfung. Durch Sichtprüfung wird die Beschaffenheit der Lösung (Farbe, Klarheit, Abwesenheit von sichtbaren Partikeln, etc.), die Unversehrtheit des Applikationsbehältnisses und, wenn möglich, die richtige Trägerlösung überprüft. Die Sterilität der Infusions- und Injektionslösungen wird durch ein validiertes aseptisches Herstellungsverfahren sichergestellt. Geschultes und qualifiziertes pharmazeutisches Personal stellt die Arzneimittel in einem Bereich der Reinraumklasse A (Zytostatika-Sicherheitswerkbank), umgeben von einer Reinraumklasse B oder C, her. Die Luftqualität und die mikrobiologischen Bedingungen in den Herstellungsbereichen werden routinemäßig überwacht und das Personal muss regelmäßig, durch Herstellung von Dummies mit Nährmedien, die Fähigkeit zum aseptischen Arbeiten nachweisen. Eine Prüfung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der fertigen Zubereitungen nach der Herstellung ist aufgrund der vom Europäischen Arzneibuch geforderten Sterilität für Parenteralia kaum möglich. Eine Kontrollmöglichkeit bietet die gravimetrische Herstellung. Diese zeichnet sich durch eine hohe Genauigkeit und die Kontroll- und Dokumentationsmöglichkeit jedes einzelnen Herstellungsschritts aus. Aufgrund von hohen Anschaffungskosten und des höheren Zeitaufwands bei der Herstellung ist diese Methode in Apotheken weniger verbreitet.

In der Klinik-Apotheke des UKD erfolgt die Herstellung der patientenindividualisierten Zytostatikazubereitungen volumetrisch. Das bedeutet, dass die benötigte Menge Wirkstoff vom Herstellenden in eine Spritze aufgezogen und in einen mit steriler Trägerlösung vorgefüllten Infusionsbeutel überführt wird. Die qualitative und quantitative Kontrolle der Zubereitungen wird durch die Anwendung des 4-Augen-Prinzips sichergestellt. Dabei überprüft ein zweiter Mitarbeiter den vom Herstellenden aufgezogenen Wirkstoff und die Menge, bevor dieser in die Trägerlösung überführt wird. Diese Methode ist sehr kostenintensiv und zeitaufwendig, da zwei Personen für die Herstellung einer Zubereitung eingebunden werden (Borget et al. 2006). Auch das Fehlerpotential ist bei dieser Methode durch Volumenabweichungen bei unterschiedlichen Spritzenherstellern, die große Anzahl an Zubereitungen pro Tag und den Zeitdruck bei der Herstellung hoch.

## Einleitung

Fehler bei der Dosierung können aufgrund der Schwere von Tumorerkrankungen, der geringen therapeutischen Breite und des hohen Nebenwirkungspotentials der antineoplastischen Wirkstoffe schwerwiegende Folgen haben. Eine Überdosierung kann zu schweren Nebenwirkungen bis hin zum Tod führen, wohingegen eine Unterdosierung die Wirksamkeit der Therapie beeinträchtigt.

Weitere Möglichkeiten zur Kontrolle der Zubereitungen haben sich in der Routine bisher nicht durchgesetzt. Das Wiegen von Stichproben ist bei der Verwendung von vorgefüllten Infusionsbeuteln für die Herstellung zu ungenau, da die Menge der vorgefüllten Trägerlösungen stark schwanken kann. Die stichprobenartige Wägung ist bei der Vielzahl der Wirkstoffe, Dosierungen, Applikationsbehältnisse und Volumina nicht praktikabel. Die Herstellung von zwei Zubereitungen unter identischen Bedingungen (eine für den Patienten und eine zu analytischen Zwecken) stellt aufgrund der hohen Kosten für Krebsmedikamente keine Alternative dar (Borget et al. 2006). Auch bergen Analysemethoden wie zum Beispiel Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC), Massenspektroskopie oder Titrationsen ein hohes Kontaminationsrisiko für die Mitarbeiter beim Umgang mit CMR-Arzneistoffen und sind sehr zeitaufwendig, wodurch keine schnelle Auslieferung zum Patienten gewährleistet werden kann.

In den zurückliegenden Jahren wurden eine Vielzahl an Nahinfrarot (NIR)-Methoden zur Identifizierung und Quantifizierung in der Agrar-, Lebensmittel-, Chemie- und Ölindustrie entwickelt. Auch in Apotheken nimmt die Bedeutung der Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS) immer mehr zu. Einsatzgebiete sind zum Beispiel die Identifikation von Rezeptursubstanzen und Teedrogen, verlustfreie Identifizierung hochpotenter Wirkstoffe und die Identifikation und Qualifizierung von Defekturarzneimitteln (Link 2014).

Aufgrund der Tatsache, dass Wasser sehr starke Absorptionsbanden im NIR-Bereich aufweist und dadurch die Erstellung einer quantitativen Methode schwierig erscheint, wurde der Analytik in wässrigen Medien bisher wenig Aufmerksamkeit geschenkt (Le et al. 2014). Untersuchungen, wie z. B. zur Bestimmung des Gehalts von Natrium-, Kalium- und Calciumchlorid in Wasser (Zhang et al. 2015) oder die Bestimmung von Ethanol- und Zuckergehalten in wässrigen Produkten mittels NIRS

## Einleitung

zeigen aber, dass Konzentrationsmessungen in wässrigen Medien grundsätzlich möglich sind (Dumoulin et al. 1987). Auch die quantitative Bestimmung der beiden Wirkstoffe Gemcitabin und 5-Fluorouracil mittels NIRS wurde durch Le et al. (2014) in einer Machbarkeitsstudie gezeigt. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die NIR-Spektroskopie ausreichend Potenzial für die Entwicklung einer Methode zur Endproduktprüfung von patientenindividuell hergestellten Zytostatikazubereitungen bietet.

Bislang existiert keine ausreichend genaue und praktikable Analytik für patientenindividuelle Zytostatikazubereitungen in der Routineherstellung von Apotheken. Daher begründet sich der Bedarf nach einer schnellen und zerstörungsfreien Methode zur quantitativen Beurteilung von Zytostatikazubereitungen im Rahmen der Endprüfung und Freigabe durch den Apotheker. Aufgrund der Geschwindigkeit sowie der nichtinvasiven und zerstörungsfreien Arbeitsweise bietet die NIRS gute Voraussetzungen für diese Aufgabe. Es ist keine Probenvorbereitung notwendig und eine große Anzahl unterschiedlicher Stoffe kann in kurzer Zeit gemessen werden.

## 2 Zielstellung

Die meisten patientenindividuell hergestellten Zytostatikallösungen weisen nur sehr geringe Wirkstoffkonzentrationen auf. Um eine entsprechend lange Infusionsdauer zu gewährleisten, bestimmte Konzentrationsbereiche einzuhalten oder das gewebereizende oder nekrotisierende Potential vieler Wirkstoffe zu mindern, wird ein Großteil der Zytostatika mit Trägerlösungen (z. B. Glucose 5 % oder Natriumchlorid 0,9 %) verdünnt. Dazu wird die entsprechende Menge Wirkstoff in einen mit Trägerlösung vorbefüllten Infusionsbeutel gegeben. Die Wirkstoffkonzentrationen liegen somit i. d. R. in einem Bereich von 0,1 bis 10 mg/ml (entspricht ca. 0,01 – 1,0 %). Aufgrund der Inkompatibilität vieler Wirk- oder Hilfsstoffe mit PVC bzw. dem darin enthaltenen Weichmacher DEHP, werden PVC-freie (z. B. EVA, PP oder PE) oder mehrschichtige Beutel aus verschiedenen Polymeren verwendet. Im Rahmen dieser Arbeit soll mittels chemometrischer Verfahren eine geeignete NIRS-Methode zur quantitativen Bestimmung patientenindividualisierter Zytostatikazubereitungen mit ausreichender Genauigkeit erstellt und validiert werden. Die Ergebnisse der NIRS-Bestimmungen sollen in der Routine als qualitätsrelevanter Parameter der Endproduktprüfung durch den Apotheker zur Freigabe nach § 7 Abs. 1 c und Abs. 2 der Apothekenbetriebsordnung (BMG 2018) herangezogen werden können, weshalb die Bestimmungsgrenze der entwickelten NIRS-Methoden bestimmt und beurteilt werden muss. In Deutschland werden für Rezepturarzneimittel Abweichungen des Gehalts vom Nominalwert von bis zu  $\pm 10$  % toleriert (Heuermann und Heuermann 2015), aber bei Zytostatika und MAK handelt es sich um hochpotente Wirkstoffe, weshalb in der Routine nur eine Abweichungen des Gehalts vom Nominalwert von maximal  $\pm 5$  % akzeptiert wird. Um mit den zu entwickelnden NIR-Methoden eine addierte Gesamtabweichung von höchstens  $\pm 10$  % zu garantieren wird als maximal tolerierbare Abweichung vom tatsächlichen Referenzwert  $\pm 5$  % festgelegt. Aufgrund der großen Vielzahl unterschiedlicher Wirkstoffe wird zuvor eine repräsentative Auswahl der am Universitätsklinikum Carl Gustav Carus Dresden im Klinikalltag verordneten und in der Klinik-Apotheke hergestellten Wirkstoffe getroffen.

## Zielstellung

Aktuell existiert auf dem Markt für NIR-Spektroskopie keine Vorrichtung zur standardisierten Messung von flexiblen Infusionsbeuteln. Daher werden die Wirkstofflösungen in Messgläsern und Quarzglas-Küvetten vermessen.

### **2.1 Auswahl geeigneter Wirkstoffe**

Da die Betrachtung aller in der Chemo- und Immuntherapie verwendeten Wirkstoffe den Rahmen dieser Arbeit übersteigen würde, werden vorab zehn Wirkstoffe sowohl mit einem Scanning-Grating- als auch mit einem Fourier-Transformation (FT)-NIR-Spektrometer untersucht. Anhand der erhaltenen Ergebnisse werden, für die Erstellung und Validierung der quantitativen Methoden, das leistungsfähigere Spektrometer und vier potentiell geeignete Wirkstoffe ausgewählt.

Zur Auswahl der Wirkstoffe für die Voruntersuchungen wurden als Auswahlkriterien die Verordnungshäufigkeit am UKD (2012 – 2015), die Applikationsform, die Form des Fertigarzneimittels (FAM) und die chemische Struktur des Wirkstoffs herangezogen.

Tabelle 1 zeigt die 14 am häufigsten in der Zytostatika-Abteilung der Klinik-Apotheke des UKD in den Jahren 2010 bis 2015 verarbeiteten Wirkstoffe (absteigend nach Häufigkeit sortiert).

## Zielstellung

Wirkstoff	Anzahl Verordnungen
(5-Fluorouracil)	19.075
Calciumfolinat	13.196
Cytarabin	12.926
Cisplatin	11.018
(Azacitidin)	9.933
(Etoposidphosphat)	8.696
Paclitaxel	8.020
Gemcitabin	7.074
(Cyclophosphamid)	6.348
Cetuximab	5.720
Irinotecan	5.678
Oxaliplatin	5.660
Carboplatin	5.607
Bevacizumab	5.446

Tab. 1: Die am häufigsten verarbeiteten Wirkstoffe der Zytostatika-Abteilung am UKD (2010 – 2015)

Für die Untersuchung mit einem NIR-Spektrometer entfallen die Wirkstoffe 5-Fluorouracil und Azacitidin. Diese werden in der Regel nicht in Infusionsbeuteln, sondern in Spritzen oder Elastomerpumpen zubereitet, welche nicht in eine Infusionsbeutel-Messvorrichtung eingebracht und daher nicht zerstörungsfrei mit einem NIR-Spektrometer vermessen werden können. Die verfügbaren FAM von Etoposidphosphat (Etopophos®) und Cyclophosphamid (Cyclophosphamid Hexal® oder Endoxan®) liegen als Lyophilisate vor und müssen vor der Verdünnung mit einer Trägerlösung rekonstituiert werden. Die Rekonstitution wird durch die herstellende Person mit Hilfe von Einmalspritzen durchgeführt. Beim Dosieren mittels Einmalspritzen kann es zu Volumenabweichungen durch ungenaue Graduierungen der Spritzen, unterschiedliche Dichten der Lösungen, Sorgfalt und Genauigkeit der herstellenden Personen und anderen Faktoren kommen (Heck et al. 1996). So entstandene Schwankungen bei der Endkonzentration der rekonstituierten Lösungen würden sich als Fehler auf die zu erstellende NIR-Methode übertragen, weshalb die

## Zielstellung

beiden Stoffe für die Betrachtung mittel NIRS im Rahmen dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden.

In der NIRS misst man Ober- und Kombinationsschwingungen von Molekülverbindungen, welche während der Schwingung ihr Dipolmoment ändern. Das sind vor allem Molekülverbindungen, die eine starke Dipolstruktur aufweisen, wie z. B. CH-, OH-, NH- und SH-Bindungen oder auch Carbonylbindungen. Abbildung 4 zeigt die Strukturformeln von Calciumfolinat und den sieben verbleibenden klassischen Zytostatika. Calciumfolinat weist selbst keine zytotoxischen oder CMR-Eigenschaften auf, wird aber im Rahmen vieler Therapieprotokolle als Wirkverstärker für 5-Fluorouracil oder für die Leucovorin-Rescue beim Einsatz von Methotrexat verwendet, weshalb es im Rahmen der Voruntersuchungen mit betrachtet werden soll.

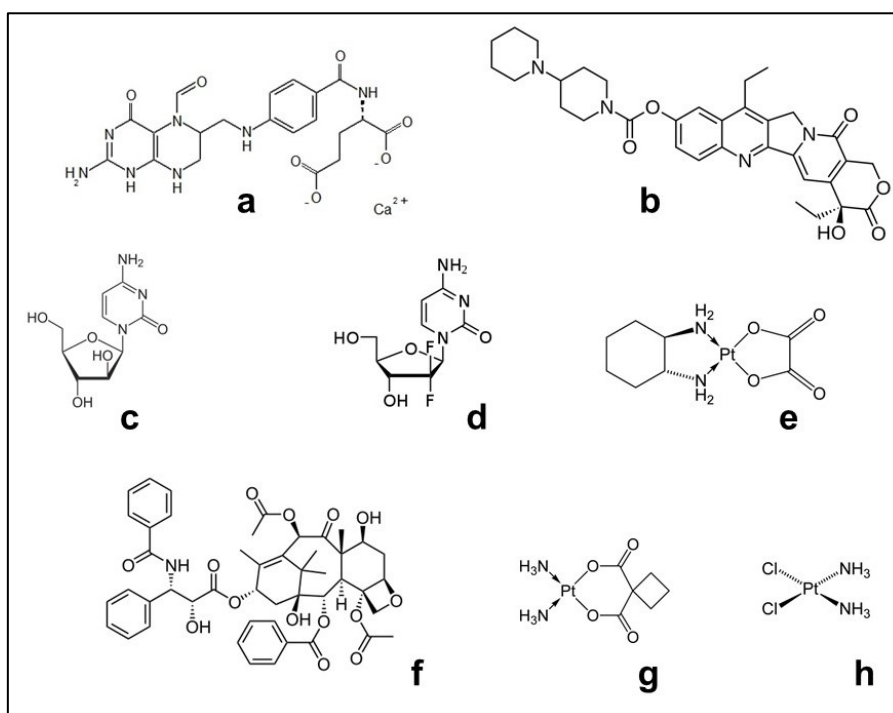


Abb. 4: Strukturformeln von Calciumfolinat (a), Irinotecan (b), Cytarabin (c), Gemcitabin (d), Oxaliplatin (e), Paclitaxel (f), Carboplatin (g) und Cisplatin (h)

## Zielstellung

Es wurden somit die folgenden zehn Wirkstoffe für die Voruntersuchungen mit zwei unterschiedlichen NIR-Spektrometern ausgewählt:

- |                  |               |
|------------------|---------------|
| - Calciumfolinat | - Paclitaxel  |
| - Cytarabin      | - Irinotecan  |
| - Cisplatin      | - Gemcitabin  |
| - Carboplatin    | - Bevacizumab |
| - Oxaliplatin    | - Cetuximab   |



### 3 Theoretische Grundlagen

#### 3.1 NIR-Spektroskopie

Die NIR-Spektroskopie stellt ein einfach zu bedienendes, sehr schnelles und zerstörungsfreies Analyseverfahren dar. Es ist keine Probenvorbereitung oder Behandlung mit anderen Chemikalien notwendig und die Analyse von mehreren Komponenten in nahezu jeder Matrix weist eine Präzision und Genauigkeit vergleichbar mit denen der verwendeten Referenzmethoden auf. Jedoch erfordern die oft komplexen und überlappenden Spektren spezielle mathematische Verfahren, um die Daten zu analysieren. Die aufgenommenen Spektrendaten werden dafür mit Daten der Referenzmethode korreliert und Quantifizierungen können nach multivariater Datenanalyse und der Erstellung chemometrischer Methoden durchgeführt werden.

##### 3.1.1 Physikalisch-chemische Grundlagen

In der Spektroskopie wird elektromagnetische Strahlung genutzt, um Materialien anhand des Energieaustauschs zwischen ihnen und dem eingestrahlt Licht zu analysieren. Die Energie eines Lichtphotons ist dabei definiert als:

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda} = h \cdot c \cdot \tilde{\nu} \quad (\text{Gl. 3.1})$$

daraus folgt: 
$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad (\text{Gl. 3.2})$$

$h$  ist das Plancksche Wirkungsquantum,  $\nu$  die Frequenz des Lichts und  $c$  die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum. Gleichung 3.1 zeigt, dass je kürzer die Wellenlänge wird, umso höher werden die Wellenzahl und die Energie. Die Wellenzahl  $\tilde{\nu}$  wird üblicherweise in  $\text{cm}^{-1}$  und die Wellenlänge  $\lambda$  in nm angegeben. Zur Umrechnung der Wellenlänge in Wellenzahlen wird das Reziproke der Wellenlänge in nm mit  $10^7$  multipliziert (Gl. 3.2). Bei der Spektroskopie werden Absorptions- oder Transmissionsspektren aufgezeichnet. Dazu wird in eine Probe eingestrahlt Licht mit der Intensität  $I_0$  durch Absorption verringert und die Intensität des nicht absorbierten Lichtes  $I$  bei jeder Wellenlänge (oder Wellenzahl) detektiert. Die daraus

folgende Transmission  $T$  errechnet sich nach Gleichung 3.3 und wird graphisch gegen die Wellenzahlen bzw. Wellenlängen aufgetragen, woraus sich ein Transmissions-spektrum ergibt. Die Extinktion (nachfolgend als Absorption  $A$  bezeichnet, da der Begriff Extinktion im Europäischen Arzneibuch (Kapitel 2.2.25) durch diesen ersetzt wurde, um ihn der englischen Bezeichnung „absorbance“ anzugleichen) ist der negative dekadische Logarithmus der Transmission (Gl. 3.4). Diese Größe darf nicht mit der prozentualen Absorption verwechselt werden, welche den Bruchteil der von einer Probe absorbierten Lichtintensität angibt (Gl. 3.5) (vgl. Rücker et al. 2008).

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (\text{Gl. 3.3})$$

$$A = -\log_{10} T = \log_{10} \frac{I_0}{I} \quad (\text{Gl. 3.4})$$

$$A [\%] = \frac{I_0 - I}{I_0} \cdot 100 \quad (\text{Gl. 3.5})$$

<b>Wellenlänge (<math>\lambda</math>)</b>	< 0,01 nm	0,01 – 1 nm	100 – 800 nm	800 – 2.500 nm	2,5 – 50 $\mu\text{m}$	50 – 500 $\mu\text{m}$	500 $\mu\text{m}$ – 30 cm	> 0,1 m
<b>Wellenzahl (<math>\tilde{\nu}</math>)</b>				12.500 – 4.000 $\text{cm}^{-1}$	4.000 – 200 $\text{cm}^{-1}$	200 – 20 $\text{cm}^{-1}$		
<b>Bereich</b>	Gamma-Strahlen	Röntgenstrahlen	UV-Vis Bereich	NIR	MIR	FIR	Mikrowellen	Radio- wellen

Tab. 2: Spektrum der elektromagnetischen Wellen

Das elektromagnetische Spektrum ist in verschiedene Regionen aufgeteilt (Tab. 2). Der Bereich der NIR-Strahlung erstreckt sich von 12.500 bis 4.000  $\text{cm}^{-1}$ , das entspricht dem Wellenlängenbereich von 800 bis 2.500 nm, und grenzt im kurzwelligeren Bereich an das sichtbare Licht und im langwelligeren Bereich an die mittlere Infrarotstrahlung (MIR). Licht des NIR-Bereichs regt in Molekülen nicht die Grundschrwingungen (Valenz- und Deformationsschwingungen) zwischen zwei Atomen, wie im MIR-Bereich, sondern Oberschwingungen von CH-, SH-, NH- und OH-Bindungen und Kombinationsschwingungen aus Valenz- und Deformationsschwingungen an. Diese werden durch ein bestimmtes Vielfaches der Energie, welche zur Anregung der energieärmeren Grundschrwingungen nötig ist, hervorgerufen. Die Schwingungen in einem Molekül können durch das Modell des

anharmonischen Oszillators erklärt werden. Abbildung 5 zeigt das entsprechende Energiediagramm. Der Abstand zwischen zwei Atomen in einem Molekül wird durch die Bindungslänge  $r$  definiert, wobei  $r_0$  den Ausgangsabstand der Atombindung darstellt.  $E_{\text{pot}}$  steht für die potentielle Energie,  $E_0$  für die Nullpunktenergie und  $E_D$  für die Energie, die zur Dissoziation der Atombindung führt. Die Schwingungsquantenzahl  $v$  gibt an, in welchem Schwingungszustand sich die Bindung befindet bzw. welches Energieniveau besetzt ist. Die Grundschrwingungen, welche im MIR angeregt werden, werden durch den Übergang vom Schwingungszustand  $v = 0$  nach  $v = 1$  dargestellt. Die Übergänge in höhere Schwingungszustände ( $v = 2; 3; n$ ) sind die Oberschwingungen, welche im NIR angeregt werden (Skrabal 2009). Je höher der Schwingungszustand ist, desto unwahrscheinlicher wird ein Übergang in den nächst höheren und die Intensität der Absorptionsbanden nimmt ab (Günzler und Böck 1990) und gleichzeitig werden die Banden breiter.

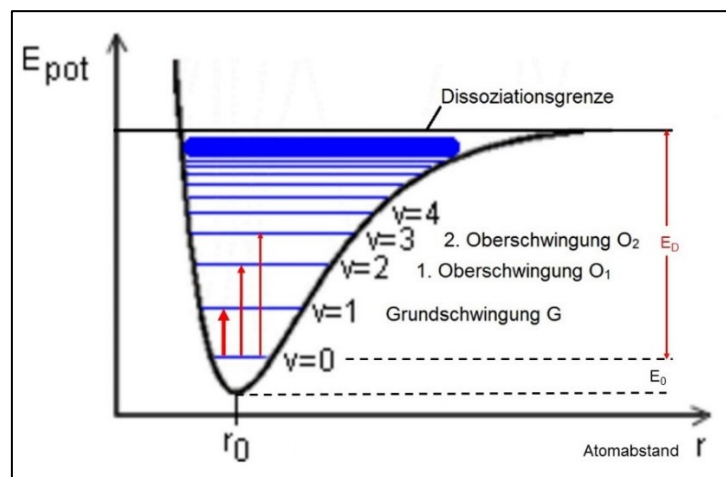


Abb. 5: Energiediagramm eines anharmonischen Oszillators (entnommen und angepasst von: Salzer et al. (a))

Aufgrund der im Verhältnis zu den Grundschrwingungen kleineren Absorptionskoeffizienten der Ober- und Kombinationsschrwingungen eignet sich die NIRS, um Proben direkt und ohne vorherige Verdünnung zu messen (Bracher et al. 2016).

Die Messungen können je nach Bauart des verwendeten Spektrometers und der Eigenschaften der zu messenden Proben nach unterschiedlichen Messprinzipien durchgeführt werden (Abb. 6). Bei der Transmissionsmessung (Abb. 6, a) werden klare Flüssigkeiten oder transparente Folien direkt von dem Licht durchstrahlt. Der Detektor befindet sich hinter der Probe und misst die nicht absorbierte Intensität.

Analog verhält es sich bei der diffusen Transmission (Abb. 6, b), wobei hier durch die zu messenden Proben (z. B. getrübbte Lösungen, Folien oder dünne Festkörper mit ausreichender NIR-transparenz) das eingestrahlte Licht nicht nur absorbiert, sondern auch gestreut wird, was bei quantitativen Analysen zu Fehlern führen kann (Bracher et al. 2016). Die Messung in diffuser Reflexion (Abb. 6, c) findet bei festen Materialien Anwendung, die aufgrund ihrer Schichtdicke nicht mehr für die diffuse Transmission geeignet sind. Die NIR-Strahlung dringt dabei ein Stück in das Probenmaterial ein, wobei ein gewisser Teil absorbiert wird und der nicht absorbierte Anteil diffus von der Oberfläche des Feststoffs reflektiert wird (siehe auch Kubelka und Munk 1931). Der Detektor befindet sich in diesem Fall nicht hinter, sondern vor der Probe und erfasst die Remission der Probe. Die Remission  $R$  ergibt sich aus dem Quotienten der diffus reflektierten Strahlung der Probe  $I$  und der Intensität der Strahlung eines Referenzmaterials  $I_{Ref}$  (Gl. 3.6). Da NIR-Strahlung unterschiedlich tief in die Proben eindringt, wird zum Vergleich immer eine Messung gegen eine definierte Referenzsubstanz (z. B. Titandioxid) durchgeführt (Bracher et al. 2016). Aus der Remission kann anschließend analog zur Transmission die (pseudo)-Absorption  $A_R$  berechnet werden (Gl. 3.7).

$$R = \frac{I}{I_{Ref}} \quad (\text{Gl. 3.6})$$

$$A_R = \log_{10} \frac{1}{R} = \log_{10} \frac{I_{Ref}}{I} \quad (\text{Gl. 3.7})$$

Mit diesem Geräteaufbau lassen sich nicht nur feste Stoffe, sondern auch klare Flüssigkeiten messen. Dazu wird die Flüssigkeit durchstrahlt und an einer dichten Oberfläche (z. B. ein Metallkörper) diffus reflektiert. Anschließend wird die Probe ein zweites Mal durchstrahlt, bevor die nicht absorbierte Intensität  $I$  von dem, vor der Probe befindlichen, Detektor erfasst wird. Durch das Anbringen von Abstandshaltern an die reflektierende Oberfläche können definierte Schichtdicken dargestellt werden. Dieses Messprinzip stellt eine Kombination aus Transmission und diffuser Reflexion dar und wird als Transflexion bezeichnet (Abb. 6, d). Bestimmt wird die (pseudo)-Transmission als Quotient von nicht absorbierter Intensität  $I$  der Probe und nicht absorbierter Intensität  $I_T$  der Messzelle ohne Probe. Die (pseudo)-Absorption  $A_R$  berechnet sich analog als dekadischer Logarithmus des Reziproken der (pseudo)-Transmission (Bracher et al. 2016).

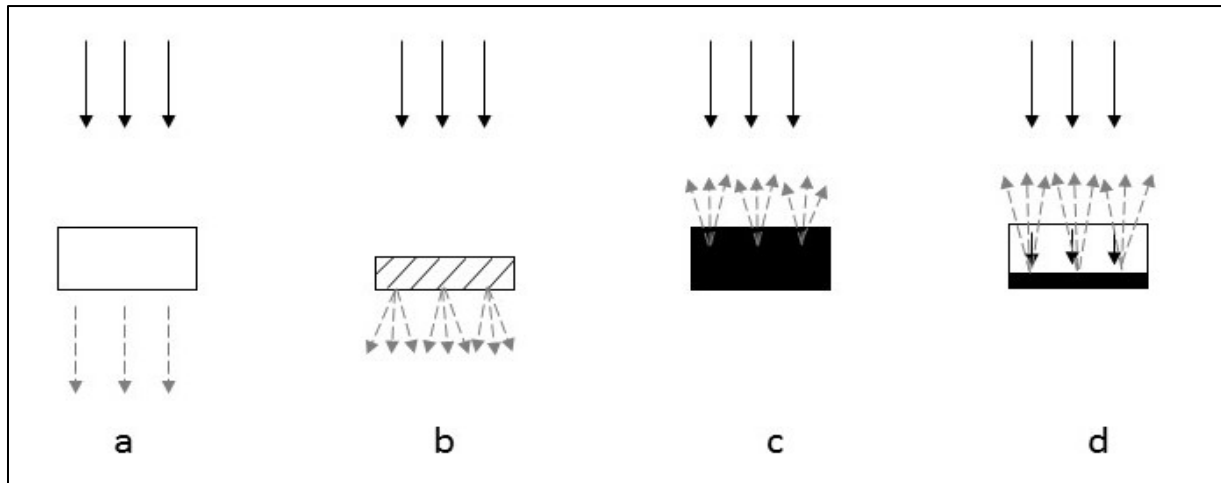


Abb. 6: Messprinzipien der NIRS: Transmission (a), diffuse Transmission (b), diffuse Reflexion (c) und diffuse Transflexion (d) (Bracher et al. 2016)

### 3.1.2 Nahinfrarot-Spektrometer

Der Markt für NIR-Spektrometer hält eine große Auswahl diverser Geräte bereit, die sich in Aufbau und Aufnahmetechnik unterscheiden. Hauptunterschied ist neben dem äußeren Aufbau, der sich nach dem jeweiligen Einsatzgebiet richtet (z. B. In-line-Messungen, mobile Messungen, Labormessungen), die verwendete Messtechnologie. Neben Spektrometern mit FT-Technologie gibt es die dispersiven Geräte (Scanning- oder Fixed-Grating-Spektrometer). Für die Untersuchungen in dieser Arbeit wurden sowohl ein FT-NIR-Spektrometer als auch ein Gerät mit Scanning-Grating-Technologie verwendet. Im Folgenden wird auf diese beiden Technologien näher eingegangen.

#### 3.1.2.1 Scanning-Grating-NIR-Spektrometer

Das zentrale Bauteil dieser Spektrometer ist ein bewegliches Beugungsgitter, welches als Monochromator das eingestrahlte polychromatische Licht in seine einzelnen Wellenlängen zerlegt. Ein Ausgangsspalt definiert die Wellenlänge, welche auf die Probe eingestrahlt wird. Durch Drehung des Gitters ändert sich diese eingestrahlte Wellenlänge (Abb. 7). So wird jede Wellenlänge einzeln und nacheinander auf die Probe eingestrahlt (sequenzielle Messung). Als Detektoren werden meist ungekühlte Indium-Gallium-Arsenid (InGaAs)-Detektoren eingesetzt, wodurch nur Spektren im Wellenlängenbereich zwischen ca. 1.000 und 1.900 nm

aufgenommen werden können. Die Begrenzung auf diesen Bereich ist aufgrund der Menge an Informationen aus Ober- und Kombinationsschwingungen für viele Anwendungen ausreichend (Link 2014). Durch den Einbau einfacher Bauteile wie ungekühlte Detektoren oder einen Gittermonochromator können verhältnismäßig preisgünstige, kompakte und robuste Geräte hergestellt werden. Diese eignen sich besonders für qualitative Aussagen (z. B. Identitätsprüfung in Apotheken).

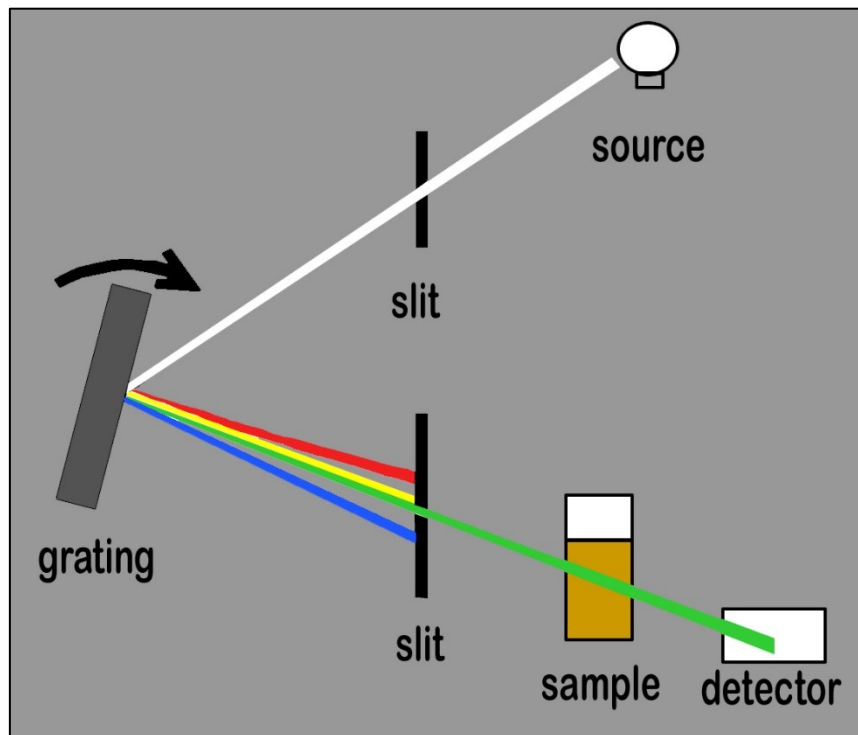


Abb. 7: Vereinfachte Darstellung eines Scanning-Grating-Spektrometers (entnommen von Andersen et al. 2013)

### 3.1.2.2 FT-NIR-Spektrometer

FT-NIR-Spektrometer sind wesentlich komplexer und größer im Aufbau als Scanning-Grating-Geräte. Grund dafür ist u. a. das eingebaute Michelson-Interferometer, als zentrales Bauteil dieser Spektrometer. Abbildung 8 stellt die Funktionsweise eines Interferometers dar. Das eingestrahlte kohärente Licht (gleiche Amplitude, Schwingungsrichtung und Wellenlänge) wird durch einen Strahlteiler (halbdurchlässiger Spiegel) in zwei Strahlen geteilt. Der erste Strahl wird von einem feststehenden und der zweite Strahl von einem beweglichen Spiegel reflektiert. Beide Strahlen werden anschließend vom Strahlteiler wieder zusammengeführt und interferieren miteinander.

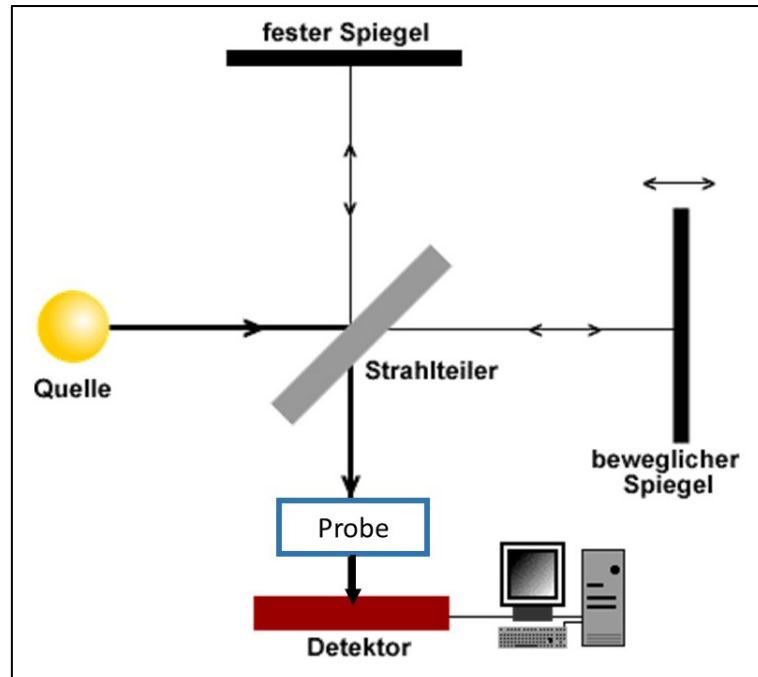


Abb. 8: Michelson-Interferometer (entnommen von Salzer et al. (b))

Durch Veränderung der Position des beweglichen Spiegels entsteht zwischen den Wellen der Strahlen eine Phasenverschiebung. Je nachdem, um welche Wegstrecke der Spiegel verschoben wird, tritt destruktive Interferenz (Verschiebung um  $\lambda/2$  oder einem ganzzahligen Vielfachen davon; Abb. 9, b) oder konstruktive Interferenz (Verschiebung um 0;  $\lambda$  oder einem ganzzahligen Vielfachen davon; Abb. 9, a) auf.

Der resultierende Strahl wird durch die zu messende Probe auf den Detektor geleitet. Das daraus erhaltene Interferogramm, welches die Intensität des Lichts als Funktion des Spiegelweges darstellt, wird mittels FT in ein Absorptionsspektrum überführt.

Die Probe wird bei der FT-NIRS nicht sequenziell, wie bei dispersiven Geräten durchstrahlt, sondern von allen Wellenlängen zur gleichen Zeit (simultane Messung) (Link 2014). Die resultierende Lichtintensität wird in der Regel mit thermostatierten InGaAs-Halbleiter-Detektoren, deren Leitfähigkeit sich proportional zur einfallenden Lichtintensität ändert, erfasst. Die Sensibilität dieser Detektoren ist temperaturabhängig, weshalb durch Kühlung Spektren von 800 nm bis 2.500 nm aufgezeichnet werden können.

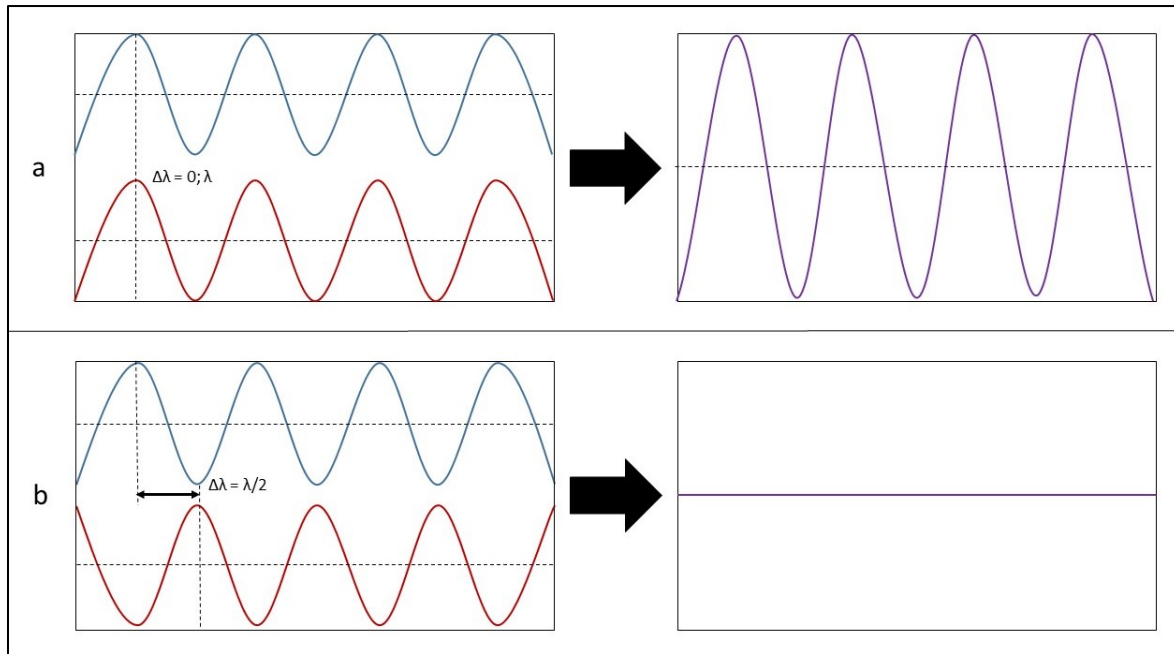


Abb. 9: Konstruktive (a) und destruktive (b) Interferenz von zwei kohärenten Wellen

Im Vergleich zu den einfachen dispersiven Geräten waren FT-NIR-Spektrometer größer und kostenintensiver. Durch den beweglichen Spiegel waren sie auch nicht so robust gegenüber mechanischen Erschütterungen wie Scanning-Grating-Spektrometer. Mit Einführung der Rock-Solid-Technologie wurden diese Nachteile jedoch behoben und sie weisen einige weitere Vorteile gegenüber den dispersiven NIR-Spektrometern auf. Der messbare Wellenlängenbereich ist breiter als bei dispersiven Geräten (800 – 2.500 nm), wodurch zusätzlich Kombinations-schwingungen im längerwelligen Bereich erfasst werden. Durch Einstrahlung des gesamten Frequenzbereichs wird das Detektorrauschen verringert (Multiplex-Vorteil) und die Verwendung runder Aperturblenden statt Spaltblenden erhöht den Lichtdurchsatz (Jacquinot-Vorteil). Dadurch ergibt sich ein verbessertes Signal-Rausch-Verhältnis. Um die Auflösung zu erhöhen, muss im Gegensatz zu Scanning-Grating-Spektrometern der Ausgangsspalt nicht verkleinert werden, wodurch mehr Messlicht ausgeblendet wird. Die Auflösung ist bei FT-NIR-Spektrometern abhängig von der Wegstrecke des beweglichen Spiegels und kann somit ohne Verschlechterung des Signal-Rausch-Verhältnisses erhöht werden. Der Einsatz eines Lasers zur Spiegelpositionskontrolle erhöht die Wellenlängenpräzision, wodurch eine Wellenlängengenauigkeit  $< 0,01$  nm erreicht wird (Connes-Vorteil). Im Gegensatz zu sequentiellen Messungen der Scanning-Grating-Spektrometer, bei



denen ein zeitaufwendigerer Wellenlängenscan durchgeführt wird, findet eine simultane Messung i. d. R. in weniger als einer Sekunde statt. Die Messzeit wird durch die Wegstrecke, die der bewegliche Spiegel im Interferometer für eine bestimmte Auflösung zurücklegen muss, bestimmt (vgl. Fink 2002). Außerdem kann die Übertragung von Referenzspektren auf baugleiche Spektrometer sehr einfach erfolgen (Bracher et al. 2016).

### **3.2 Chemometrie**

Bei der NIRS erhält man im Gegensatz zur Spektroskopie im ultravioletten bis sichtbarem Licht (UV-Vis) oder der MIR-Spektroskopie keine Peaks oder scharfe Einzelbanden bestimmter Substanzen oder funktioneller Gruppen. Durch Überlagerung vieler einzelner Absorptionsbanden verschiedener Ober- und Kombinationsschwingungen entstehen wenige breite Banden. Die erhaltenen Spektren sind somit i. d. R. bandenarm aber informationsreich (Link 2014). Daher ist, in Abhängigkeit von der Aufgabenstellung, die Anwendung einer klassischen univariaten Kalibration, bei der nur eine bestimmte Wellenlänge im Absorptionsmaximum oder eine Bandenfläche zur Kalibrierung herangezogen wird, in der Regel für NIR-Spektren ungeeignet. Für die Auswertung werden daher verschiedene multivariate Analysemethoden verwendet, deren Gesamtheit man als Chemometrie bezeichnet. Hierbei wird nicht nur ein Datenpunkt, sondern bestimmte Abschnitte oder das gesamte Spektrum für die Kalibration verwendet. Durch die Menge an Strukturinformation, die für die Methodenerstellung verwendet wird, können somit auch kleinste Unterschiede in den Spektren erfasst und ausgewertet werden (vgl. Conzen 2005: 5-9). Unterschiede in den Spektren sind nicht allein von chemischen Einflussgrößen wie Konzentration des Analyten, Lösungsmittel, Kristall- oder adsorbiertem Wasser abhängig, sondern können auch von physikalischen Parametern wie Temperatur, intermolekulare Wechselwirkungen, Polymorphie oder Teilchengröße beeinflusst werden.

Für die Entwicklung einer quantitativen Kalibriermethode werden NIR-Spektren von Proben bekannter Konzentration gemessen, um anschließend eine mathematische Verknüpfung zwischen Spektrendaten und Referenzwerten zu erstellen. Für die multivariate Auswertung existieren verschiedene Regressionsmethoden. Diese liefern als Ergebnis eine Regressionsgleichung, welche den Zusammenhang

zwischen Spektrendaten und Referenzwerten angibt. In der Praxis hat sich für die Bestimmung einzelner Komponenten die Partial Least Square Regression (PLSR) für quantitative Auswertungen gegenüber der Principal Component Regression (PCR) und der Multiple Linear Regression (MLR) am besten bewährt (Conzen 2005: 9-15). Daher wurde diese Methode für die vorliegende Arbeit verwendet und wird im Folgenden näher erläutert.

### 3.2.1 Multivariate Datenauswertung mittels Partial Least Square Regression

Die PLSR dient dazu die beste Korrelation zwischen Spektrendaten und Referenzwerten zu ermitteln. In Form einer Datenpunktmatrix werden zuerst die Spektrendaten (X) und die Referenzwerte (Y) mathematisch dargestellt (Abb. 10), wobei  $n$  für die Anzahl der Kalibrationsproben und  $m$  für die einzelnen Wellenlängen der Spektren steht. Da mittels PLSR auch Mehrkomponentensysteme ausgewertet werden können, stellt  $k$  die Anzahl der zu analysierenden Komponenten dar. Wird nur der Zusammenhang von Spektrendaten und einer Komponente (z. B. Konzentration eines Analyten) bestimmt, handelt es sich um eine PLSR1 mit  $k = 1$  und die Matrix Y wird zu dem Vektor  $y$  reduziert. Die Erstellung eines Modells zur Bestimmung mehrerer Komponenten (z. B. Konzentration mehrerer Analyten oder Hilfsstoffe) wird als PLSR2 bezeichnet.

$$X = \begin{pmatrix} x_1^1 & \cdots & x_m^1 \\ \vdots & & \vdots \\ x_1^n & \cdots & x_m^n \end{pmatrix} = \begin{matrix} & & M \\ \begin{matrix} \boxed{\text{X}} \\ \end{matrix} & & \\ N & & \end{matrix}$$

$$Y = \begin{pmatrix} y_1^1 & \cdots & y_k^1 \\ \vdots & & \vdots \\ y_1^n & \cdots & y_k^n \end{pmatrix} = \begin{matrix} & & K \\ \begin{matrix} \boxed{\text{Y}} \\ \end{matrix} & & \\ N & & \end{matrix}$$

Abb. 10: Darstellung der Spektraldaten und Referenzwerte als Datenpunktmatrizen

Die Datenpunktmatrizen werden anschließend mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA = Principal Component Analysis) in ihre Eigenvektoren zerlegt, die auch als Faktoren oder Hauptkomponenten bezeichnet werden. Dabei werden die Ausgangsmatrizen der Spektrendaten und Referenzwerte jeweils als Summe der Residualmatrizen ( $E$  bzw.  $F$ ) und der Produkte aus Scorematrizen ( $T$  bzw.  $U$ ) und den transponierten Loadingmatrizen ( $P^T$  bzw.  $Q^T$ ) dargestellt (Gl. 3.8 und 3.9). Der Rang der einzelnen Faktoren wird durch  $R$  gekennzeichnet. Für nähere Details zur PCA sei auf weiterführende Literatur verwiesen (z. B. Kessler 2007; Bruker Optik GmbH 2011). In den Faktoren sind in komprimierter Form alle analytisch relevanten spektralen Informationen enthalten und sie können für die Kalibration genutzt werden (Conzen 2005: 9-15).

Spektrendaten: 
$$X = t_1 p_1^T + t_2 p_2^T + \dots t_R p_R^T + E$$
$$= TP^T + E \quad (\text{Gl. 3.8})$$

Referenzwerte: 
$$Y = u_1 q_1^T + u_2 q_2^T + \dots u_R q_R^T + F$$
$$= UQ^T + F \quad (\text{Gl. 3.9})$$

Die Besonderheit bei der PLSR im Gegensatz zur PCR ist, dass bei der Berechnung der Faktoren die Referenzwerte mit berücksichtigt werden. Das heißt bei der Faktorisierung der Matrizen  $X$  und  $Y$  beeinflussen sich die Datensätze gegenseitig, wodurch häufig weniger Faktoren nötig werden (Abb. 11) (Kessler 2007: 113-114).

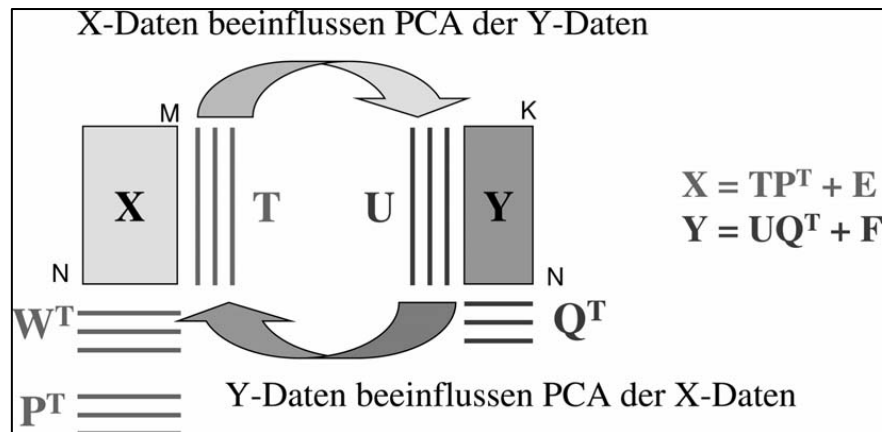


Abb. 11: Schematische Darstellung der PLS und beteiligter Matrizen (entnommen von Kessler 2007: 113)

Die erhaltenen Faktoren werden nach sinkendem Eigenwert sortiert. Der erste Faktor beinhaltet die größte Varianz, die in den Datensätzen steckt und hat die größte Bedeutung für die Kalibration. Je höher der Rang eines Faktors ist, desto weniger Varianz der Datensätze beinhaltet er. Somit wird verdeutlicht, dass Faktoren niedrigen Rangs wichtige Informationen für die Auswertung und Faktoren höheren Rangs vor allem spektrales Rauschen und sonstige Störungen beinhalten. Für die Leistungsfähigkeit des PLSR-Modells ist die Anzahl der verwendeten Faktoren ausschlaggebend. Werden zu wenige Faktoren für das Modell gewählt („underfitting“), werden wichtige spektrale Strukturen nicht ausreichend erfasst und unzureichende Analysenergebnisse resultieren daraus. Werden dagegen zu viele Faktoren gewählt („overfitting“), werden spektrales Rauschen und andere Störsignale mit modelliert und verschlechtern die Analyseergebnisse (vgl. Conzen 2005: 9-15).

Die Residualmatrizen E und F enthalten Informationen der Ausgangsmatrizen, welche nicht in den errechneten Faktoren enthalten sind, da bei einer Faktorzerlegung nie die gesamte Abweichung der Referenz- und Spektrendatenmatrix beschrieben wird. Als Residuum bezeichnet man den Rest, der durch die Hauptkomponentenanalyse nicht erklärt wird (Bruker Optik GmbH 2011: 8). Hierbei handelt es sich vor allem um spektrale Strukturen, welche analytisch nicht relevant sind.

Abschließend wird mit den für die Kalibrierung ausgewählten Faktoren der Regressionskoeffizient  $b_{PLSR}$  bestimmt. Mit dessen Hilfe lässt sich aus den

Spektraldaten von Proben unbekannter Konzentration ( $X_i$ ) deren Gehalt ( $Y_i$ ) vorhersagen (Gl. 3.10). Der Regressionskoeffizient setzt sich dabei als eine Funktion aus den Spektraldaten, den Referenzwerten, dem Rang und einer Anpassung der resultierenden Score-Werte zusammen (Conzen 2005: 9-15).

$$Y_i = X_i \cdot b_{PLSR} \quad (\text{Gl. 3.10})$$

### 3.2.2 Entwicklung einer quantitativen NIRS-Methode

Ziel einer quantitativen NIRS-Methode ist es anhand von Spektren unbekannter Proben den Gehalt einer oder mehrerer Komponenten der Proben vorherzusagen. Zur Erstellung einer solchen Methode werden zuerst Kalibrationsproben mit bekannten Referenzwerten gemessen und anschließend wird mittels chemometrischer Verfahren eine Kalibrierfunktion berechnet und beurteilt (siehe Abb. 12). Aufgrund der Tatsache, dass NIR-Spektren keine scharfen Peaks, sondern breite Absorptionsbanden durch Überlagerung und Überlappung verschiedener Ober- und Kombinationsschwingungen aufweisen, werden diese Banden, Teilbereiche davon oder auch das gesamte Spektrum für die Erstellung einer NIRS-Methode verwendet. Da sowohl chemische als auch physikalische Einflussgrößen, wie z. B. Gehalt der Proben, Art der Matrix, Verunreinigungen, Temperaturschwankungen, Feuchtigkeit, Partikelgröße und Chargenvariabilität, die NIR-Spektren der Proben beeinflussen, sollte für eine robuste Methode die gesamte Variabilität der Proben aus der späteren Routineanalytik in die Kalibrationsdaten einfließen. Damit die Methode zukünftig alle Einfluss- und Störgrößen erfasst, ist daher eine große Anzahl an Proben nötig. Die Anzahl sollte dabei im Verhältnis zu Kosten und Aufwand festgelegt werden. Der Konzentrationsbereich der Kalibrationsproben wird so gewählt, dass dieser den in der Routine zu analysierenden Bereich sowohl über- als auch unterschreitet. Proben, die außerhalb des Routinebereichs liegen, werden so sicher erfasst und die Methode wird gegenüber Proben im Grenzbereich stabiler. Die Proben sollten den Konzentrationsbereich möglichst gleichmäßig abdecken (vgl. Conzen 2005: 25-26).

Die Referenzwerte der Proben mit unbekannter Konzentration können entweder durch eine andere analytische Methode, wie beispielsweise UV-Vis-Spektroskopie oder HPLC, ermittelt werden oder es werden Proben mit bekannter Konzentration im

Labor hergestellt. Wie bei allen Quantifizierungsverfahren ist entscheidend, dass die Ermittlung der Referenzwerte bzw. die Herstellung der Proben sorgfältig vorgenommen wird, da die Fehler der Referenzanalytik in die NIRS-Methode übernommen werden und somit direkten Einfluss auf die Qualität der Methode haben.

Die für die NIR-Messungen zu wählenden Messbedingungen richten sich in erster Linie nach der Art der Proben und welche Bedingungen zukünftig bei der Routineanalytik sinnvoll sind. Es muss u. a. festgelegt werden, welches Messprinzip Anwendung findet, wie die Hintergrundmessung durchgeführt wird oder welche Schichtdicke die Probe aufweist. Eine Hintergrundmessung ist eine Messung, bei der entweder keine oder eine vorher festgelegte Probe im Probenraum vorhanden ist und ein Referenzspektrum aufgenommen wird, welches später vom Spektrum der eigentlichen Proben subtrahiert wird.

Bevor die Kalibrierfunktion mittels PLS-Algorithmus berechnet wird, werden bestimmte Wellenlängenbereiche festgelegt und die Spektren einer Datenvorbehandlung unterzogen. Nicht immer wird das gesamte Spektrum, sondern nur bestimmte Wellenlängenbereiche verwendet, um den Einfluss anderer Größen, wie beispielsweise die Wasserbande, zu verringern oder Bereiche ohne Strukturinformation zu entfernen. Hilfreich kann es auch sein nur die NIR-Absorptionsbanden der zu bestimmenden Substanz auszuwählen, soweit man diese mit Hilfe von Referenzsubstanzen im Vorfeld bestimmen kann.

Um mögliche Störeffekte in Spektren zu reduzieren und die Korrelation zwischen Spektrendaten und Referenzwerten zu erhöhen, bieten die meisten Chemometrie-Softwares eine Vielzahl an Möglichkeiten zur Spektrenvorbehandlung.

So können mit Hilfe der MSC (Multiplikative Streukorrektur) Streueffekte bei Messungen in diffuser Reflexion oder Transflexion reduziert werden. Dafür wird mit jedem Kalibrationsspektrum eine lineare Transformation durchgeführt, sodass ein möglichst geringer Unterschied zwischen transformiertem und Mittelwertspektrum aller Kalibrationsspektren resultiert.

Durch Normierungen können z. B. leichte Unterschiede von Schichtdicken, Spektrenrauschen und ebenfalls Streueffekte ausgeglichen werden.

Für eine Vektornormierung (SNV) wird aus allen y-Werten eines Spektrums der Mittelwert berechnet und anschließend vom Spektrum subtrahiert. Anschließend wird das Spektrum durch die Wurzel aus der Summe der Quadrate aller y-Werte dividiert.

Bei einer Min-Max-Normierung wird der kleinste y-Wert gleich Null gesetzt und die Spektren so expandiert, dass der größte y-Wert gleich 2 (Absorptionseinheiten) ist.

Um ein „verkipptes“ Spektrum zu korrigieren, also eine Basislinienverschiebung zu eliminieren, kann eine Gerade von den Spektren subtrahiert werden. Diese wird durch Berechnung der kleinsten Fehlerquadrate ermittelt. Um ein konstantes Offset zu subtrahieren, werden die Spektren linear so verschoben, dass der kleinste y-Wert gleich Null ist.

Die Berechnung der ersten Ableitung von Spektren ermöglicht es, kleine scharfbandige Signale von breiten flachen Strukturen abzuheben, da diese durch ihren steileren Anstieg eine größere Bedeutung erhalten. Mit Hilfe der zweiten Ableitung können zusätzlich sehr flache Strukturen ausgewertet werden. Der Nachteil sowohl der ersten als auch der zweiten Ableitung besteht darin, dass auch das Rauschen verstärkt wird.

Neben den bereits genannten Möglichkeiten zur Spektrenvorbehandlung existiert noch eine Vielzahl weiterer. Welche die geeignete Möglichkeit für die zu entwickelnde Methode ist oder ob überhaupt eine Spektrenvorbehandlung notwendig ist, kann nicht vorhergesagt werden. Es sollten daher immer verschiedene Möglichkeiten ausprobiert und ggf. sogar kombiniert werden.

Ob eine Spektrenvorbehandlung, der festgelegte Wellenlängenbereich und die Anzahl der verwendeten Faktoren zu einer stabilen NIRS-Methode führen, lässt sich nach der Berechnung der Kalibrierfunktion mittels externer oder interner Validierung ermitteln.

Unter externer Validierung versteht man die Überprüfung der Kalibrierfunktion mit einem Test-Set. Dafür werden unabhängige Proben (nicht im Kalibrations-Set enthalten) mit bekannten Referenzwerten gemessen und die mittels Kalibrierfunktion vorhergesagten Werte mit den wahren Referenzwerten verglichen. Wichtig ist, dass die Proben des Test-Sets den gesamten Konzentrationsbereich der

Kalibrationsproben abdecken. Nur so kann die Zuverlässigkeit der Vorhersage über den gesamten Bereich gewährleistet werden.

Die Kreuzvalidierung stellt eine interne Validierung dar. Hierzu werden aus dem Kalibrations-Set eine Probe (LOOCV = Leave One Out Cross Validation) oder mehrere entnommen und mit den verbleibenden Proben die Kalibrierfunktion berechnet. Der Wert der zuvor entnommenen Probe wird anschließend berechnet und mit dem wahren Referenzwert verglichen. Die Probe wird anschließend dem Kalibrations-Set wieder zugeführt und eine andere entnommen, mit der auf gleiche Weise verfahren wird. Dieser Vorgang wird solange wiederholt bis jede Probe einmal als unabhängige Probe durch die Kalibrierfunktion der anderen Proben analysiert wurde.

Die durch Kreuz- bzw. Test-Set-Validierung erhaltenen Daten dienen zur Beurteilung der Güte einer NIRS-Methode und werden im folgenden Kapitel (3.2.3) näher erläutert.

Im ersten Schritt werden mittels Kreuzvalidierung die optimalen Methodenparameter ermittelt. In einem zweiten Schritt wird mittels Test-Set-Validierung die Güte der Kalibration geprüft. Sollten die erhaltenen Ergebnisse nicht zufriedenstellend sein, kann versucht werden, die Methode durch Änderung der Methodenparameter oder Erhöhung der Anzahl an Kalibrationsproben zu optimieren. Führt dies auch zu keiner Verbesserung der Ergebnisse, ist das gewählte analytische Verfahren wahrscheinlich ungeeignet.

Wird jedoch eine stabile NIRS-Methode entwickelt, muss diese zum Nachweis ihrer Leistungsfähigkeit durch eine Methodenvvalidierung überprüft und die Ergebnisse dokumentiert werden. In der „Guideline on the use of near infrared spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations“ der European Medicines Agency (EMA 2014) wird die Prüfung auf Spezifität, Linearität, Wellenlängenbereich, Genauigkeit, Präzision, Robustheit, Nachweis- und Bestimmungsgrenze angegeben. Der genaue Umfang einer Methodenvvalidierung richtet sich dabei jedoch nach dem Verwendungszweck der zu prüfenden Methode.



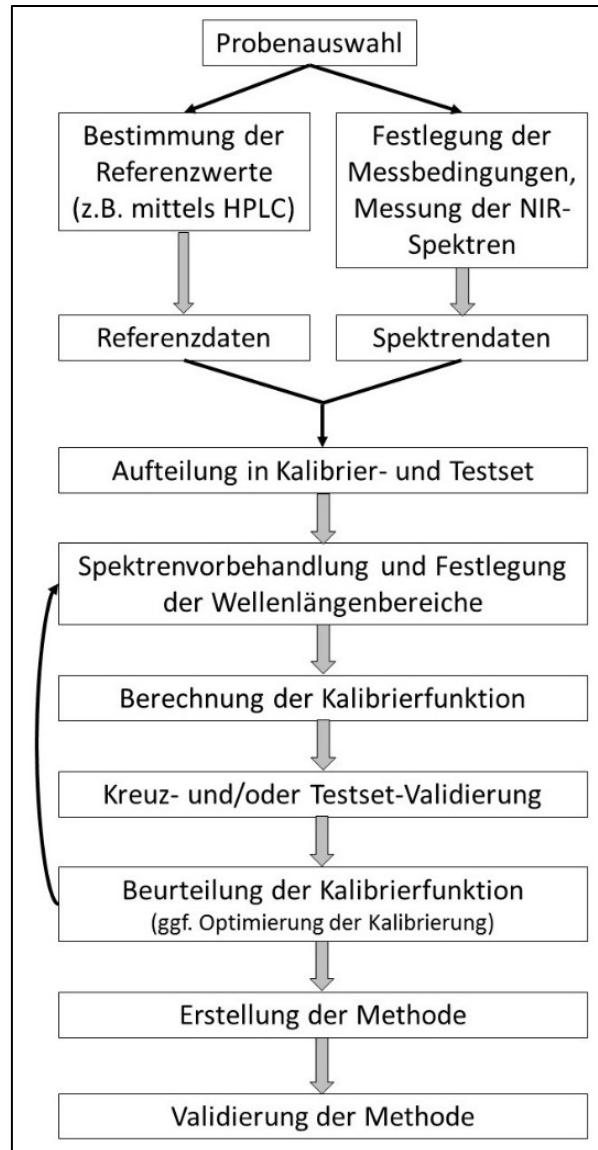


Abb. 12: Ablauf der Entwicklung einer quantitativen NIRS-Methode

### 3.2.3 Beurteilung der Güte einer NIRS-Methode

Zur Beurteilung der Güte einer NIRS-Methode existiert eine Vielzahl an Parametern, die anhand der Ergebnisse aus Kreuz- und Test-Set-Validierung berechnet werden.

Zu den wichtigsten gehören die mittleren Vorhersagefehler Root Mean Square Error of Cross Validation (RMSECV) und Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP) als Maß für die mittlere Vorhersagegenauigkeit der Kalibration.

Der RMSECV wird bei der Kreuzvalidierung berechnet und ergibt sich aus der Differenz der vorhergesagten Werte  $Y_i^{NIR}$  aller Spektren zu den Referenzwerten  $Y_i^{Ref}$ , wobei  $M$  für die Anzahl der Proben steht (Gl. 3.11). Er wird außerdem genutzt, um

während der Methodenentwicklung die optimale Anzahl an PLS-Faktoren festzulegen, indem der RMSECV in Abhängigkeit vom Faktor grafisch dargestellt wird. Das Minimum der so erhaltenen Kurve zeigt den optimalen Faktor an (Bruker Optik GmbH 2011: 21).

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{M} \cdot \sum_{i=1}^M (Y_i^{Ref} - Y_i^{NIR})^2} \quad (\text{Gl. 3.11})$$

Der RMSEP wird bei der Test-Set-Validierung auf die gleiche Weise berechnet (Gl. 3.12).

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{M} \cdot \sum_{i=1}^M (Y_i^{Ref} - Y_i^{NIR})^2} \quad (\text{Gl. 3.12})$$

Beide Fehler haben dieselbe Einheit wie die Referenzwerte und sollen möglichst kleine Werte in derselben Größenordnung hervorbringen. Ist der Fehler der Test-Set-Validierung deutlich größer als der Fehler der Kreuzvalidierung, ist von einer ungenügenden Anzahl an Kalibrationsproben auszugehen und es resultiert keine robuste Methode (Conzen 2005: 15-20). Die maximal tolerierbare prozentuale Abweichung des Fehlers vom Mittelwert der Referenzwerte soll in Bezug auf die Ansprüche, die an die Kalibration gestellt werden, festgelegt werden. Üblich sind dabei, je nach Anforderung, Abweichungen von 5 % bis 15 %.

Die Abweichung zwischen den Referenz- und den vorhergesagten Werten wird durch den Bestimmungskoeffizienten  $R^2$  angegeben. Er ist ein Maß für die Korrelation zwischen der Varianz in den Spektrendaten (= erklärte Varianz) und der Varianz der Referenzwerte (= Gesamtvarianz) (Gl. 3.13).  $R^2$  wird als Anteilswert in Prozent angegeben. Werte nahe 100 % beschreiben eine gute Korrelation. Für die Messung von Flüssigkeiten werden Werte von  $R^2 \geq 99 \%$  als gut angesehen (Conzen 2005: 62).

$$R^2 = \left[ \frac{\sum_{i=1}^M (Y_i^{NIR} - Y_m)^2}{\sum_{i=1}^M (Y_i^{Ref} - Y_m)^2} \right] \cdot 100 \quad (\text{Gl. 3.13})$$

$Y_m$  = Mittelwert der Referenzwerte

Die Linearität einer Methode wird durch Betrachtung des Anstiegs und des Achsenschnittpunkts der Geraden zwischen den vorhergesagten und den Referenzwerten beurteilt. Als linear gilt die Gerade, wenn der Anstieg möglichst 1 beträgt und der Schnittpunkt mit den Achsen durch den Nullpunkt des Diagramms verlaufen.

Der systemische Fehler zwischen den vorhergesagten Werten  $Y_i^{NIR}$  und den Referenzwerten  $Y_i^{Ref}$  (Gl. 3.14) wird als Bias bezeichnet. Er gibt an, inwieweit die vorhergesagten Werte vom Mittelwert der Referenzwerte abweichen und sollte für eine gute NIRS-Methode möglichst einen Wert, der sich statistisch nicht von Null unterscheidet, ergeben.

$$BIAS = \frac{1}{M} \cdot \sum_{i=1}^M (Y_i^{Ref} - Y_i^{NIR}) \quad (Gl. 3.14)$$

Ein weiterer Parameter zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit ist der RPD-Wert (Residual Prediction Deviation), welcher das Verhältnis von Standardabweichung der vorhergesagten Werte (SD = Standard Deviation) und dem SEP (Standard Error of Prediction) korrigiert um den BIAS darstellt (Gl. 3.15) und möglichst hoch sein sollte (Bruker Optik GmbH 2011: 127).

$$RPD = \frac{SD}{SEP} = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^M (Y_i^{Ref} - Y_m)^2}{M-1}}}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^M (Y_i^{Ref} - Y_i^{NIR} - BIAS)^2}{M-1}}} \quad (Gl. 3.15)$$

Der SEP gilt als Maß für die Genauigkeit einer Test-Set-Validierung und gibt die Standardabweichung aller vorhergesagten Werte von den Referenzwerten an.

Um in einer Kalibrierung eventuell vorhandene Ausreißer zu identifizieren, wird für Proben, deren vorhergesagter Wert statistisch signifikant vom Referenzwert abweicht, der sogenannte F Value berechnet. Einen hohen F Value haben Spektren, die nur unzureichend durch die PLS-Faktoren beschrieben werden (Bruker Optik GmbH 2011: 125). Außerdem können Ausreißer mit Hilfe des Mahalanobis-Distanz-Grenzwertes erkannt werden. Nach Berechnung des Mittelwertes und der Standardabweichung aller Kalibrationsspektren wird unter Annahme einer

Normalverteilung ein einseitiges Limit mit einer Wahrscheinlichkeit von 99,999 % angeben.

Die genannten chemometrischen Kennzahlen dienen dazu, eine leistungsfähige NIRS-Methode zu entwickeln und deren Güte zu beurteilen. Jedoch können anhand dieser Werte kaum Aussagen über die pharmazeutisch regulatorischen Kriterien an eine Methodenvvalidierung wie z. B. Präzision, Robustheit und Genauigkeit gemacht werden, wie sie in der „Guideline on the use of near infrared spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations“ der EMA (EMA 2014) oder den Q2 (R1) Leitlinien des International Council for Harmonisation (ICH) beschrieben sind. Die Eignung der Methode für den beabsichtigten Verwendungszweck und die Zuverlässigkeit in der zukünftigen Routineanwendung müssen daher durch eine Methodenvvalidierung belegt werden.

In der Literatur werden für eine Methodenvvalidierung in der NIRS verschiedene Ansätze beschrieben. Im Rahmen dieser Arbeit soll ein Genauigkeitsprofil auf der Grundlage von Toleranzintervallen erstellt werden, da es einen vollständig ICH-konformen Ansatz darstellt (vgl. Chavez et al. 2013).

Dafür werden über den gesamten Konzentrationsbereich an mehreren Messpunkten Wiederholmessungen von Proben mit bekannter Konzentration durchgeführt und anschließend mit der zu prüfenden NIRS-Methode vorhergesagt. Aus den Differenzen zwischen den vorhergesagten und den Referenzwerten wird für jeden Messpunkt das Konfidenzintervall, in welchem mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % alle vorhergesagten Werte liegen werden, aus der Standardabweichung der Wiederfindungsraten (Gl. 3.16) berechnet. Stellt man anschließend die Konzentration gegen die Wiederfindungsrate mit den entsprechenden Konfidenzintervallen graphisch dar, kann man durch Festlegen von oberer und unterer Akzeptanzgrenze prüfen, ob die Methode für den gesamten Konzentrationsbereich als gültig angesehen werden kann (berechnete Konfidenzintervalle liegen innerhalb der Akzeptanzlimits) oder ob der Bereich, in dem die Konzentration mit der festgelegten Präzision vorhergesagt werden kann, eingeschränkt werden muss (Bestimmungsgrenze = Schnittpunkt von Konfidenzintervall und Akzeptanzlimit).

$$WFR = \left( \frac{Y_i^{NIR}}{Y_i^{Ref}} \right) \cdot 100 \quad (\text{Gl. 3.16})$$

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Wirkstoffe

Im Folgenden werden die verwendeten Zytostatika, monoklonalen Antikörper und Trägerlösungen in einer Auflistung beschrieben.

#### 4.1.1 Zytostatika

##### Calciumfolinat

Verwendet wurde das Arzneimittel FOLI-cell® von Stadapharm (Bad Vilbel, Deutschland) mit einer Konzentration von 10 mg/ml. Weitere Bestandteile sind Trometamol, Salzsäure 36 % und Wasser für Injektionszwecke (Stadapharm GmbH 2018).

##### Carboplatin

Eingesetzt wurde CARBO-cell® mit einer Konzentration von 10 mg/ml von cell pharm (Bad Vilbel, Deutschland), welches als weiteren Bestandteil nur Wasser für Injektionszwecke enthält (Stadapharm GmbH 2017b). Außerdem kam das FAM Carbomedac® mit einer Konzentration von 10 mg/ml, welches ebenfalls Wasser für Injektionszwecke als weiteren Bestandteil enthält, zum Einsatz (Medac GmbH 2017).

##### Cisplatin

Verwendet wurde Cisplatin Accord® (Accord Healthcare GmbH, München, Deutschland) mit einer Konzentration von 1 mg/ml. Als weitere Bestandteile sind Wasser für Injektionszwecke, Natriumchlorid, Salzsäure und Natriumhydroxid enthalten (Accord Healthcare Limited 2015).

##### Cytarabin

Eingesetzt wurde ARA-cell® 50 mg/ml (Fa. cell pharm, Bad Vilbel, Deutschland). Neben Cytarabin sind Natrium-(S)-lactat-Lösung (50 %) und Wasser für Injektionszwecke enthalten (Stadapharm GmbH 2017a).

## Material und Methoden

### Gemcitabin

Verwendet wurde das FAM Gemcitabin HEXAL® (Fa. Hexal, Holzkirchen, Deutschland) mit einer Konzentration von 40 mg/ml. Weitere Bestandteile sind Salzsäure 10 % und Wasser für Injektionszwecke (Hexal AG 2017a).

### Irinotecan

Eingesetzt wurde Irinotecan Amneal® von der Fa. Amneal Deutschland GmbH (Gröbenzell, Deutschland) mit einem Gehalt von 20 mg/ml. Weitere Bestandteile sind Sorbitol, Milchsäure, Natriumhydroxid und Wasser für Injektionszwecke (Amneal Deutschland GmbH 2016).

### Oxaliplatin

Verwendet wurde das Arzneimittel Eloxatin® (Fa. Sanofi-Aventis, Frankfurt a. M., Deutschland) mit einer Konzentration von 5 mg/ml, welches als weiteren Bestandteil nur Wasser für Injektionszwecke enthält (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH 2018).

### Paclitaxel

Genutzt wurden die FAM Taxomedac® (Fa. Medac, Wedel, Deutschland), welches als weitere Bestandteile Macrogolglycerolricinoleat, Ethanol und Citronensäure enthält (Medac GmbH 2016) und NeoTaxan® (Fa. Hexal, Holzkirchen, Deutschland) mit Macrogolglycerolricinoleat und Ethanol als Zusatzstoffe (Hexal AG 2017b). Beide FAM haben eine Konzentration von jeweils 6 mg/ml.

## **4.1.2 Monoklonale Antikörper**

### Bevacizumab

Verwendet wurde Avastin® der Firma Roche (Grenzach-Wyhlen, Deutschland), welches neben dem monoklonalen Antikörper Bevacizumab in einer Konzentration von 25 mg/ml noch  $\alpha$ ,  $\alpha$ -Trehalose 2 H<sub>2</sub>O, Natriumphosphat, Polysorbat 20 und Wasser für Injektionszwecke enthält (Roche Pharma AG 2018).

### Cetuximab

Eingesetzt wurde Erbitux® der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) mit einer Konzentration von 5 mg/ml. Als weitere Bestandteile sind Natriumchlorid, Glycin,

## Material und Methoden

Polysorbat 80, Citronensäure-Monohydrat, Natriumhydroxid und Wasser für Injektionszwecke enthalten (Merck KGaA 2014).

### 4.1.3 Trägerlösungen

#### Natriumchlorid 0,9 %

Verwendet wurde sowohl Natriumchlorid Infusionslösung 154 der SerumWerk Bernburg AG (Bernburg, Deutschland) als auch Natriumchlorid 0,9 % Viaflo-Infusionslösung der Fa. Baxter Deutschland GmbH (Unterschleißheim, Deutschland).

#### Glucose 5 %

Verwendet wurde Glucose 5 % Injektionslösung der Firma B. Braun Melsungen AG (Melsungen, Deutschland), Glucose 50 mg/ml Infusionslösung (Viaflo) der Fa. Baxter Deutschland GmbH (Unterschleißheim, Deutschland) und Glucosteril 5 % Infusionslösung (Freeflex) der Fresenius Kabi Deutschland GmbH (Bad Homburg, Deutschland). Der verwendete Freeflex-Infusionbeutel besteht aus einer mehrschichtigen Folie auf Polyolefinbasis.

## 4.2 Spektrometer

### 4.2.1 Scanning-Grating-NIR-Spektrometer

Für die Messungen mit einem Scanning-Grating Gerät wurde das Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan GmbH, Dresden, Deutschland) verwendet. Die Lichtquelle ist eine Wolfram-Halogenlampe, der Detektor ein ungekühlter InGaAs-Einzeldetektor. Die Aufnahme der Spektren erfolgte in Messgläsern (Borosilikatglas, DURAN®) mit einem goldbeschichteten Transflexionsstempel aus Aluminium als Reflexionsfläche (Abb. 13). Nachdem die flüssige Probe in das Messglas gefüllt wurde, wird der Transflexionsstempel in das Messglas gestellt. Bedingt durch die 0,4 mm Abstandhalter des Transflexionsstempels befindet sich die Probe in dem Spalt zwischen Messglas und Transflexionsstempel. Da das eingestrahlte Licht durch die Oberfläche des Stempels reflektiert wird, durchstrahlt es die Probe zweimal, woraus sich eine Gesamtschichtdicke von 0,8 mm ergibt. Jedes Spektrum wurde in diffuser Transflexion in dem Wellenlängenbereich von 1.000 nm bis 1.900 nm

(ca.  $5.263 - 10.000 \text{ cm}^{-1}$ ) gemessen und bildet ein Mittelwertspektrum aus 500 Einzelscans. Die Aufnahme der Daten erfolgte mit Hilfe der QuickStep Software Version 0.99.0.30005 (Hiperscan GmbH, Dresden, Deutschland) und die Auswertung mit der OPUS® Software Version 7.5.18 (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Deutschland). Für die Hintergrundmessung wurde ein Messglas gefüllt mit Trägerlösung und Transflexionsstempel aufgenommen.

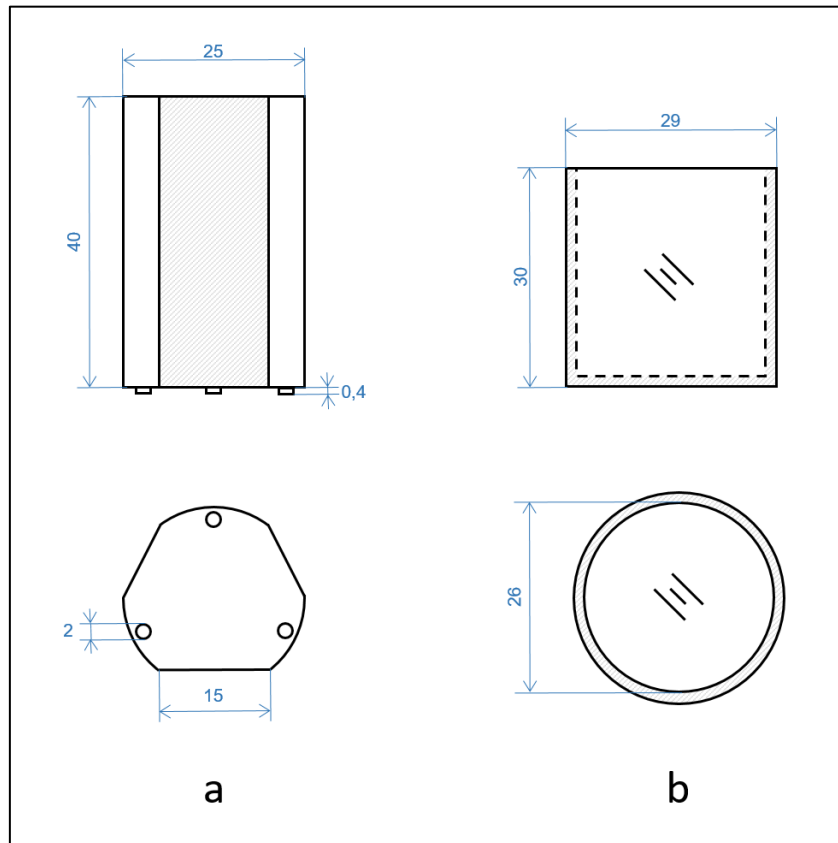


Abb. 13: Zweitafelbild von Transflexionsstempel (a) und Messglas (b) für die Messungen mit dem Apo-Ident NIR-Spektrometer

#### 4.2.2 FT-NIR-Spektrometer

Die Absorptionsspektren wurden mit einem Bruker Vertex 70 FT-IR-Spektrometer (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Deutschland) gemessen, welches mit einer Wolfram-Halogenlampe, einem Raumtemperatur InGaAs-Dioden-Detektor und einem  $\text{CaF}_2$ - Strahlenteiler ausgestattet ist, um Messungen im NIR-Bereich zu ermöglichen. Die Spektrendaten wurden mit Hilfe der OPUS® Software Version 7.5.18 (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Deutschland) aufgenommen und ausgewertet. Jedes Spektrum wurde in Transmission gemessen. Jedes Spektrum wurde nach Fourier-



Transformation eines aus 100 Einzelscans gemittelten Interferogramms erhalten. Alle Proben wurden in dem Wellenzahlbereich von  $3.900\text{ cm}^{-1}$  bis  $15.000\text{ cm}^{-1}$  mit einer Auflösung von  $6\text{ cm}^{-1}$  gemessen. Für die Aufnahme der Hintergrundmessung wurde eine Quarzglasküvette (Suprasil®) gefüllt mit Trägerlösung verwendet.

#### 4.3 Probenerstellung und Messplan

Alle Proben wurden mit Hilfe von Eppendorf Research  $\mu\text{l}$ -Pipetten hergestellt. Dies geschah im Labor unter Einhaltung entsprechender Sicherheitsstandards (siehe TRGS 525 „Gefahrstoffe in Einrichtungen der medizinischen Versorgung“ (BAuA 2014) und BGW Themenheft „Zytostatika im Gesundheitsdienst“ (Heinemann 2018)) unmittelbar vor den NIR-Messungen. Da die Messungen für die Voruntersuchungen lediglich der Auswahl des geeigneten Spektrometers und geeigneter Wirkstoffe dienen, wird auf eine Referenzanalytik verzichtet. Da je Wirkstoff nur eine Charge gemessen wird, ist die prozentuale Abweichung vom deklarierten Gehalt der FAM bei allen Proben gleich.

Für die Chargen von CARBO-cell® und Gemcitabin HEXAL®, welche zur Methodenerstellung verwendet wurden, liegen die entsprechenden Angaben zu den tatsächlichen Wirkstoffgehalten von den pharmazeutischen Herstellern vor (siehe Anhang 1 und 2). Eine Referenzanalytik ist somit nicht notwendig. Die pharmazeutischen Hersteller der FAM Erbitux® und Avastin® haben keine Auskunft über den tatsächlichen Wirkstoffgehalt erteilt. Da für MAK keine Referenzsubstanzen verfügbar sind, kann keine Referenzanalytik durchgeführt werden. Die Ergebnisse der Methodenerstellung für Cetuximab und Bevacizumab haben somit nur eine relative Richtigkeit.

Entsprechend der ASTM-Leitlinie E1655 „Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis“ (ASTM Committee E13 2012) richtet sich die Mindestzahl an Proben nach der Anzahl an Faktoren, die für die Berechnung einer NIRS-Methode verwendet werden (Gl. 4.1). Mark (1991) stellt dar, dass für eine Methode zur Bestimmung von einer Komponente mindestens 25 Proben notwendig sind. Da die Anzahl an Faktoren vor der Methodenentwicklung nicht bekannt ist, wurden, um eine ausreichende Menge an Proben für eine Kreuzvalidierung mit maximal vier Faktoren zu haben, für jeden Wirkstoff je 30 Proben für die Vermessung mit dem Apo-Ident

## Material und Methoden

NIR-Spektrometer und 30 Proben für die Vermessung mit dem Vertex 70 NIR-Spektrometer erstellt.

$$N > 6 (K + 1) \quad (\text{Gl. 4.1})$$

$N$  = Probenanzahl;  $K$  = Faktorenanzahl

Die Messpunkte erstrecken sich dabei gleichmäßig über den gesamten Konzentrationsbereich bis zu einer maximalen Konzentration, die durch die Konzentration des entsprechenden FAM begrenzt wird. Es wurde von jedem FAM und von jeder Trägerlösung je eine Charge zur Erstellung der Proben verwendet. Alle Messungen einer Konzentrationsreihe fanden an einem Tag statt und jede Konzentrationsstufe wurde bei Raumtemperatur einmal vermessen. Die Messungen mit dem Apo-Ident NIR-Spektrometer wurden in einem Probenglas (Duran Group GmbH, Wertheim, Deutschland) mit Transflexionsstempel (HiperScan GmbH, Dresden, Deutschland) und die Messungen mit dem Vertex 70 FT-IR-Spektrometer in einer Quarzglasküvette (Hellma GmbH & Co. KG, Mühlheim, Deutschland) durchgeführt. Als Hintergrundmessung wurde jeweils ein Probengefäß befüllt mit Trägerlösung gemessen. Tabelle 3 zeigt eine Kurzübersicht mit den wesentlichen Merkmalen der Proben für die Voruntersuchungen. Die vollständige Auflistung aller Details ist den Messplänen in Anhang 3 – 22 zu entnehmen.

Wirkstoff	Anzahl Proben	min. Konz. (mg/ml)	max. Konz. (mg/ml)	Mittelwert Konz. (mg/ml)
Bevacizumab	30	1,00	25,00	12,58
Calciumfolinat	30	0,25	10,00	4,33
Carboplatin	30	0,25	10,00	4,33
Cetuximab	30	1,00	5,00	2,96
Cisplatin	30	0,03	1,00	0,49
Cytarabin	30	1,00	50,00	25,43 <i>(Apo-Ident)</i> 23,35 <i>(Vertex 70)</i>
Gemcitabin	30	1,00	40,00	17,33
Irinotecan	30	0,60	20,00	9,96
Oxaliplatin	30	1,00	5,00	2,96
Paclitaxel	30	0,30	6,00	3,00

Tab. 3: Proben für die Voruntersuchungen

#### 4.3.1 Methodenerstellung

Für die Erstellung einer robusten Methode wurden je Wirkstoff 146 bis 150 Proben gemessen. Um eine größtmögliche Variabilität in den Proben zu erhalten, wurden die Messungen an mindestens vier verschiedenen Tagen bei Raumtemperatur durchgeführt. Dabei wurden für die Probenerstellung mindestens drei verschiedene Chargen jedes Wirkstoffs verwendet (lediglich für Carboplatin standen in dem Zeitraum der Messungen nur zwei unterschiedliche Chargen zur Verfügung). Von den jeweiligen Trägerlösungen wurden mindestens zwei verschiedene Chargen oder zwei unterschiedliche Hersteller für die Probenerstellung verwendet. Die Auswahl erfolgte per Zufallsprinzip. Es wurde die Trägerlösung verwendet, welche zum Zeitpunkt der Messungen in der Routineherstellung in Gebrauch war. Für die Kreuzvalidierung wurden alle Proben verwendet. Für die Test-Set-Validierung wurde automatisch jede fünfte Probe dem Test-Set und die verbleibenden dem Kalibrations-Set zugeordnet. Um möglichst den gesamten Konzentrationsbereich in beiden Datensätzen abzubilden, wurden nachträglich einige Proben manuell zwischen dem Kalibrations- und dem Test-Set getauscht. Alle Proben wurden in einer Quarzglasküvette (Hellma GmbH & Co. KG, Mühlheim, Deutschland) gemessen. Für die Hintergrundmessung wurde eine Küvette befüllt mit Trägerlösung gemessen.

Tabelle 4 zeigt eine Kurzübersicht mit den wesentlichen Merkmalen der Proben für die Methodenentwicklung. Die vollständige Auflistung aller Details ist den Messplänen in Anhang 23 – 26 zu entnehmen.

Wirkstoff	Anzahl Proben	min. Konz. (mg/ml)	max. Konz. (mg/ml)	Mittelwert Konz. (mg/ml)
Bevacizumab	150	0,20	25,00	11,42
Carboplatin	146	0,05	10,00	4,02
Cetuximab	150	0,05	5,00	2,40
Gemcitabin	150	0,40	40,00	17,88

*Tab. 4: Proben für die Methodenerstellung*

#### **4.3.2 Methodenvalidierung**

Für die Erstellung der Genauigkeitsprofile zur Validierung der erstellten Methoden, wurden für jeden Wirkstoff an sieben Konzentrationspunkten, verteilt über den gesamten Konzentrationsbereich, jeweils 10 Proben gemessen. Die Messungen der 70 Proben erfolgten verteilt auf vier Tage bei Raumtemperatur. Für die Erstellung der Proben wurden mindestens drei unterschiedliche Chargen jedes Wirkstoffs verwendet, wobei mindestens zwei davon nicht für die Proben der Methodenentwicklung verwendet wurden. Die verwendeten Trägerlösungen entstammten mindestens zwei unterschiedlichen Chargen oder Herstellern und wurden per Zufallsprinzip ausgewählt. Alle Proben wurden ebenfalls in einer Quarzglasküvette (Hellma GmbH & Co. KG, Mühlheim, Deutschland) gemessen und für die Hintergrundmessung eine Küvette mit Trägerlösung verwendet. Tabelle 5 zeigt eine Kurzübersicht mit den wesentlichen Merkmalen der Proben für die Methodenvalidierung. Die vollständige Auflistung aller Details ist den Messplänen in Anhang 27 – 30 zu entnehmen.

Wirkstoff	Anzahl Proben	min. Konz. (mg/ml)	max. Konz. (mg/ml)	Mittelwert Konz. (mg/ml)
Bevacizumab	7x10	0,50	24,00	8,64
Carboplatin	7x10	0,20	9,80	3,49
Cetuximab	7x10	0,20	4,90	1,71
Gemcitabin	7x10	0,80	38,00	11,31

Tab. 5: Proben für die Methodvalidierung

#### 4.3.3 Infusionsbeutel-Messvorrichtung

Die Messvorrichtung soll in das Bruker Vertex 70 FT-IR-Spektrometer eingesetzt werden, daher muss diese an die baulichen Gegebenheiten des Spektrometers angepasst werden. Sie soll dabei so konstruiert werden, dass die flexiblen Infusionsbeutel sicher im Strahlengang fixiert werden können. Laut Lambert-Beerschem Gesetz ist die Stoffmengenkonzentration der absorbierenden Substanz abhängig von der Dicke des zu durchstrahlenden Körpers. Eine konstant feststehende Schichtdicke der eingespannten Beutel ist daher Grundvoraussetzung für quantitative Bestimmungen. Um den Einfluss der Vorrichtung auf die zu messenden Spektren so gering wie möglich zu halten und eine möglichst hohe Transmission des eingestrahnten Lichts zu gewährleisten, wird für die lichtdurchlässigen Bauteile Quarzglas (Suprasil®) verwendet. Normales Fenster- oder Borosilicatglas würde einen größeren Anteil des eingestrahnten NIR-Lichtes absorbieren. In der Messkammer des Bruker Vertex 70 FT-IR-Spektrometers eignet sich zur Aufnahme einer Messvorrichtung der Fuß der Küvettenhalterung, da dieser fest mit dem Gerät verbunden ist und analog der Küvettenhalterung eine weitere Metallplatte mit aufgebauter Messvorrichtung aufnehmen kann (siehe Abb. 15, d). Aufgrund dieser Bedingungen ist die Größe der Messvorrichtung jedoch auf maximal 5,0 x 7,5 cm beschränkt. Die Abbildungen 14 und 15 zeigen die entwickelte Messvorrichtung, welche aus einer Aluminium Unter- und Oberplatte mit jeweils einem mittigen Loch für die NIR-Strahlung besteht. Um eine konstante Schichtdicke zu erreichen, wurden auf der Unterplatte Abstandshalter mit einer Höhe von 1 mm angebracht und die Löcher in den beiden Platten auf der Innenseite mit einer plan eingelassenen Scheibe aus Quarzglas (Suprasil®) abgedeckt. Der Infusionsbeutel wird für die Messung zwischen die beiden Platten gespannt indem die Oberplatte mit

## Material und Methoden

Hilfe der Flügelmuttern auf den Gewindestangen der Unterplatte befestigt wird (Abb. 15, c).

Um zu überprüfen, ob mit dieser Infusionsbeutel-Messvorrichtung reproduzierbare Messungen möglich sind, wurde ein 100 ml Glucosteril 5 % Freeflex-Infusionsbeutel aus der Routineherstellung 10-mal eingespannt und vermessen.

Um die Machbarkeit von Quantifizierungen mittels Messungen durch das Material der Infusionsbeutel zu überprüfen, wurden für jeden der vier untersuchten Wirkstoffe je 30 Proben gemessen. Die Proben wurden dabei analog zu den Proben für die Voruntersuchungen erstellt (Anhang 31 – 34) (vgl. Kap. 4.3.1). Um eine konstante Schichtdicke zu erhalten, wurden die Proben in einer Quarzglasküvette (Hellma GmbH & Co. KG, Mühlheim, Deutschland) gemessen, jedoch wurde mit Hilfe der Unterplatte der Messvorrichtung ein Ausschnitt eines leeren Freeflex-Infusionsbeutels in den Strahlengang eingebracht. Die Hintergrundmessung erfolgte durch das Beutelmateriale und einer mit Trägerlösung befüllten Küvette.

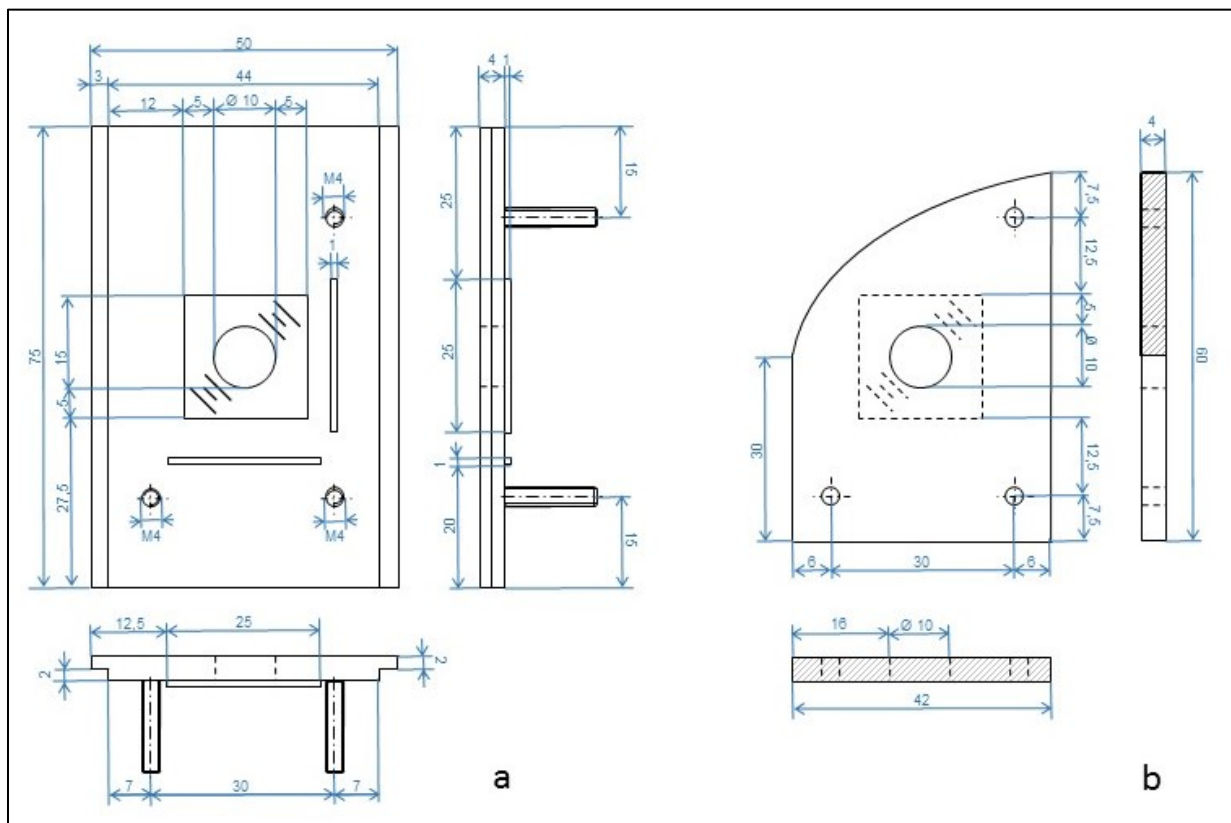


Abb. 14: Darstellung der Unterplatte (a) und Oberplatte (b) der Infusionsbeutel-Messvorrichtung als Dreitafelbild

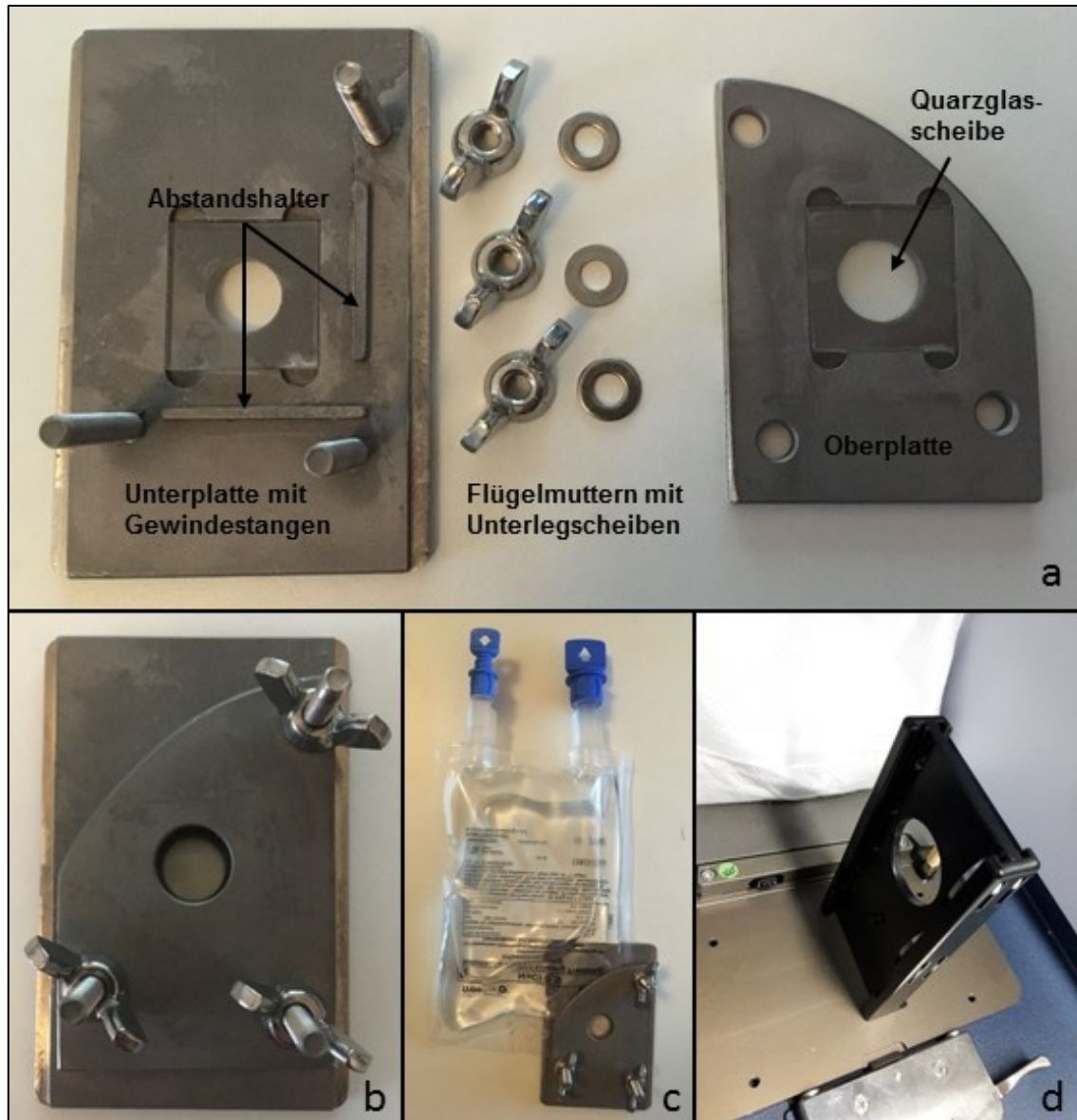


Abb. 15: Infusionsbeutel-Messvorrichtung; Vorderansicht Ober- und Unterplatte (a), Vorderansicht zusammengesetzt (b), Vorderansicht mit eingespanntem Infusionsbeutel (c), Strahlengang des Bruker Vertex FT-NIR mit Fuß der Küvettenhalterung (d)

## 5 Ergebnisse und Diskussion

### 5.1 Voruntersuchungen

#### 5.1.1 Spektroskopie mit Scanning-Grating-NIR-Spektrometer

Die aus den Messungen mit dem Apo-Ident NIR-Spektrometer erhaltenen Spektren (nach Subtraktion des Hintergrundspektrums) der verschiedenen FAM weisen keine sichtbar auswertbaren Absorptionsbanden auf (Abb. 16). Über den gesamten Spektralbereich ist ein starkes Signalrauschen zu erkennen. Im Bereich der 1. Oberschwingung der OH-Streckschwingung (ca.  $7.500 - 6.400 \text{ cm}^{-1}$ ) und der OH-Kombinationsschwingung (ca.  $5.400 - 5.265 \text{ cm}^{-1}$ ) ist ein ausgeprägteres Signalrauschen sichtbar, was auf die starke Absorption des Wassers in diesen Bereichen zurückzuführen ist.

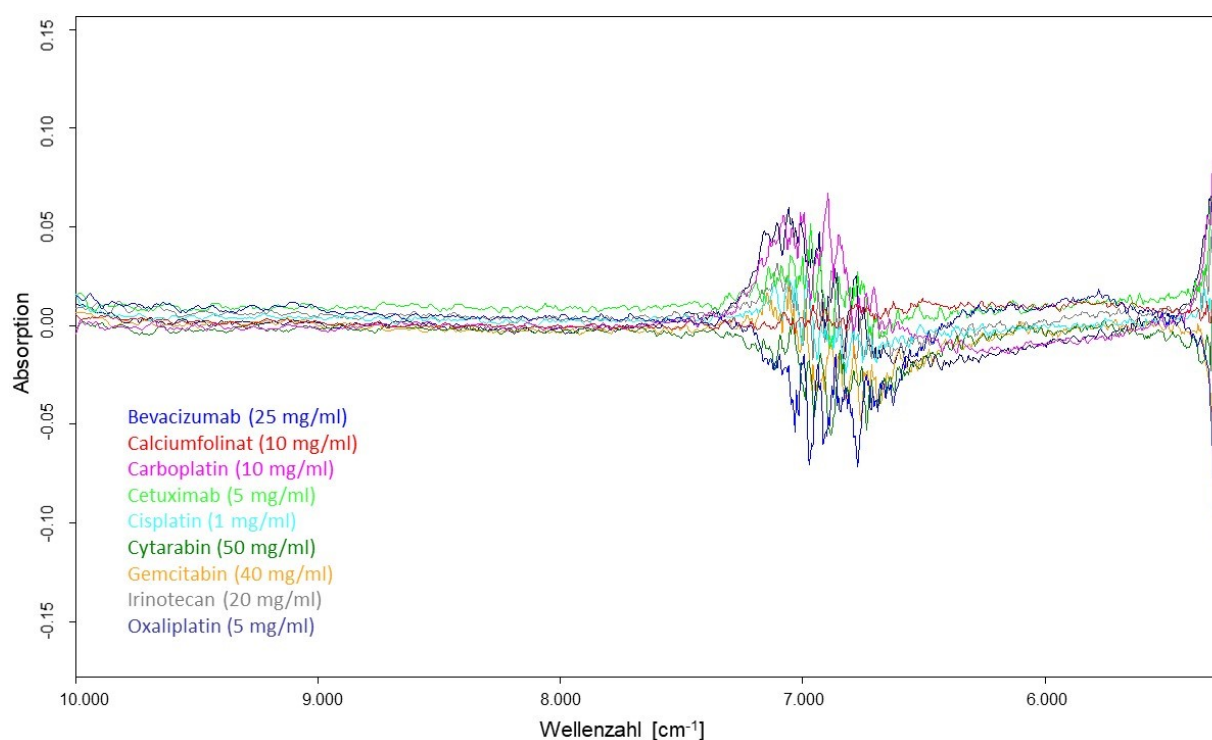


Abb. 16: Absorptionsspektren der FAM, gemessen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer

Lediglich die Spektren von Paclitaxel (Abb. 17) weisen weniger Signalrauschen auf und zeigen im Bereich von ca.  $8.000$  bis  $5.910 \text{ cm}^{-1}$  und von ca.  $5.730$  bis  $5.265 \text{ cm}^{-1}$  negative Banden, welche einer geringer werdenden Absorption des Wassers im Vergleich zur Hintergrundmessung entsprechen, da das verwendete FAM Taxomedac® kein Wasser als Hilfsstoff enthält. Die Absorptionsbande zwischen



## Ergebnisse und Diskussion

6.100 und 5.445  $\text{cm}^{-1}$  entspricht der ersten Oberschwingung der CH-Streckschwingungen. Die Atombindung ist sowohl in Paclitaxel als auch im enthaltenen Solubilisierungsmittel Macrogolglycerolricinoleat (Cremophor® EL) in großer Zahl vertreten. An dieser Bande ist eine konzentrationsabhängige Änderung der Absorption zu erkennen, weshalb dieser Spektralbereich, nach der Subtraktion einer Geraden zur Korrektur einer leichten Basislinienverschiebung, für die Erstellung der Kalibrierfunktion ausgewählt wurde.

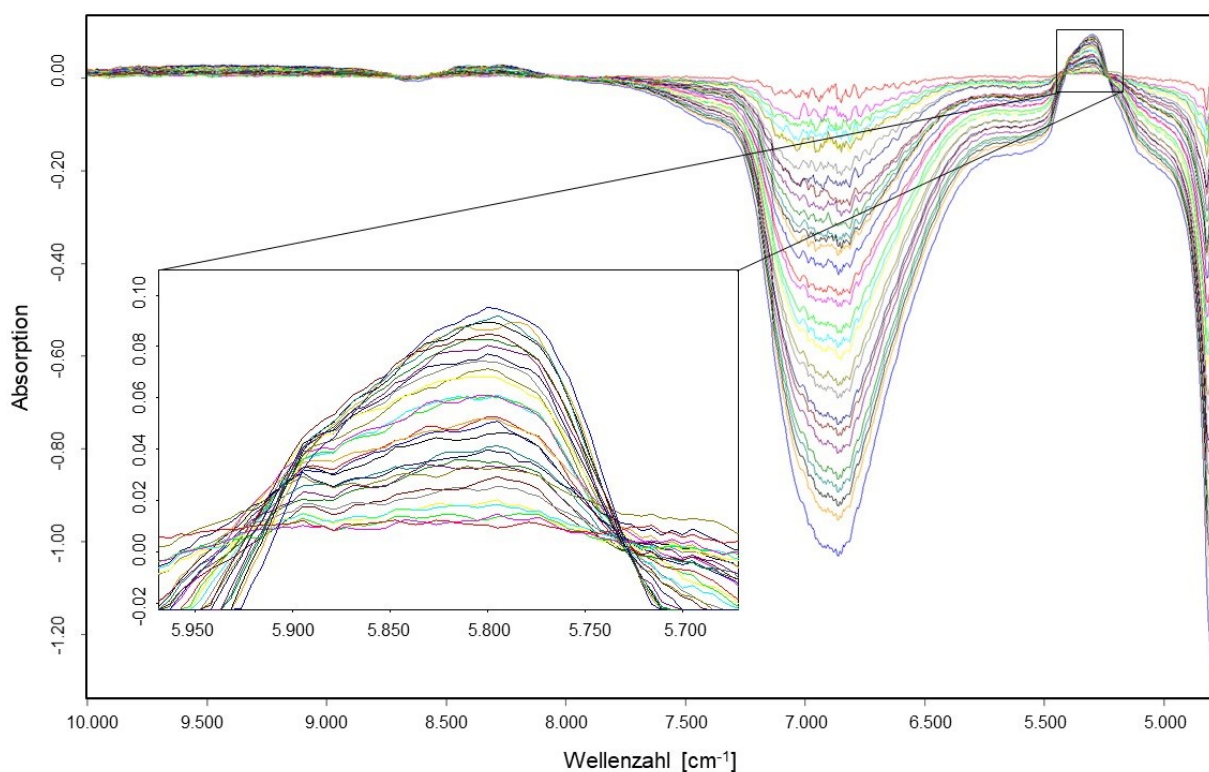


Abb. 17: Absorptionsspektren von Paclitaxel (0,3 – 6,0 mg/ml) in NaCl 0,9 %, gemessen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer

Für die anderen neun Wirkstoffe wurde jeweils die beste Kalibrierfunktion ermittelt, indem für verschiedene Spektralbereiche mit verschiedenen Varianten und Kombinationen von Datenvorbehandlungen die Kalibrierfunktionen berechnet und anschließend mittels Kreuzvalidierung (LOOCV) der RMSECV errechnet wurde.

Die besten Ergebnisse für jeden der zehn Wirkstoffe sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

## Ergebnisse und Diskussion

Je Wirkstoff sind 30 Proben gemessen worden, weshalb zur Vermeidung eines „overfittings“ nur Kalibrierfunktionen mit maximal vier Faktoren berücksichtigt worden sind (siehe auch Kapitel 4.3 Probenerstellung und Messplan).

Wirkstoff	Konz.-bereich (mg/ml)	Ø Konz. (mg/ml)	Datenvorbehandlung	Spektralbereich (cm <sup>-1</sup> )	Faktor	R <sup>2</sup> (%)	RMSECV (mg/ml)	Abweichung von Ø Konz. (±%)
Ca-Folinat	0,25 – 10,00	4,33	Keine	6100 – 5263	4	78,49	1,3000	30,02
Carboplatin	0,25 – 10,00	4,33	Keine	6474 – 5447	3	92,87	0,7510	17,34
Cetuximab	1,00 – 5,00	2,96	Keine	9400 – 5263	3	61,46	0,7570	25,57
Bevacizumab	1,00 – 25,00	12,58	Erste Ableitung	6100 – 5447	3	98,24	0,8860	7,04
Gemcitabin	1,00 – 40,00	17,33	Min-Max Normierung	9400 – 7500; 6100 – 5447	2	84,42	4,4400	25,62
Cytarabin	1,00 – 50,00	25,43	Vektor-normierung (SNV)	9400 – 5263	3	82,70	6,1200	24,07
Oxaliplatin	1,00 – 5,00	2,96	Subtraktion eines konstanten Offsets	9400 – 5263	4	90,91	0,3680	12,43
Paclitaxel	0,30 – 6,00	3,00	Subtraktion einer Geraden	6100 – 5447	3	99,96	0,0394	1,31
Cisplatin	0,03 – 1,00	0,49	Erste Ableitung + MSC	6100 – 5263	4	29,93	0,2410	49,18
Irinotecan	0,60 – 20,00	9,96	Keine	6100 – 5774	2	83,10	2,4000	24,10

Tab. 6: Ergebnisse der Kreuzvalidierung für die Voruntersuchungen mit dem Apo-Ident NIR-Spektrometer

Die ermittelten Bestimmungskoeffizienten R<sup>2</sup> mit Werten kleiner 99 % verdeutlichen, dass die Korrelation zwischen den Spektrendaten und den Referenzwerten für alle Kalibriermodelle, außer für Paclitaxel mit R<sup>2</sup> = 99,96 %, nicht ausreichend ist. Auch die erhaltenen RMSECV bzw. die prozentualen Abweichungen der Fehler von den Mittelwerten der Referenzwerte zeigen, dass außer für Paclitaxel mit einem RMSECV = 0,0394 mg/ml (entspricht ±1,31 % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwertkonzentrationen) keine geeigneten Kalibrierfunktionen erhalten wurden.

### 5.1.2 Spektroskopie mit FT-NIR-Spektrometer

Abbildung 18 zeigt die Spektren der FAM aller zehn Wirkstoffe nach Subtraktion des Hintergrundspektrums. Die Spektren weisen im Bereich der ersten und zweiten Oberschwingungen sowie im Bereich der Kombinationsschwingungen (ca. 10.000 bis 3.900  $\text{cm}^{-1}$ ) diverse Absorptionsbanden auf. Zwischen 15.000  $\text{cm}^{-1}$  und 10.000  $\text{cm}^{-1}$ , dem Bereich der dritten Oberschwingungen, werden keine sichtbaren Signale mehr detektiert. Bis auf das Signalrauschen im Bereich der OH-Kombinationsschwingung des Wassers (5.400 – 4.900  $\text{cm}^{-1}$ ), welches bei allen Spektren durch eine sehr starke Absorption des eingestrahlten Lichts verursacht wird, sind alle Spektren arm an Signalrausch-Störungen.

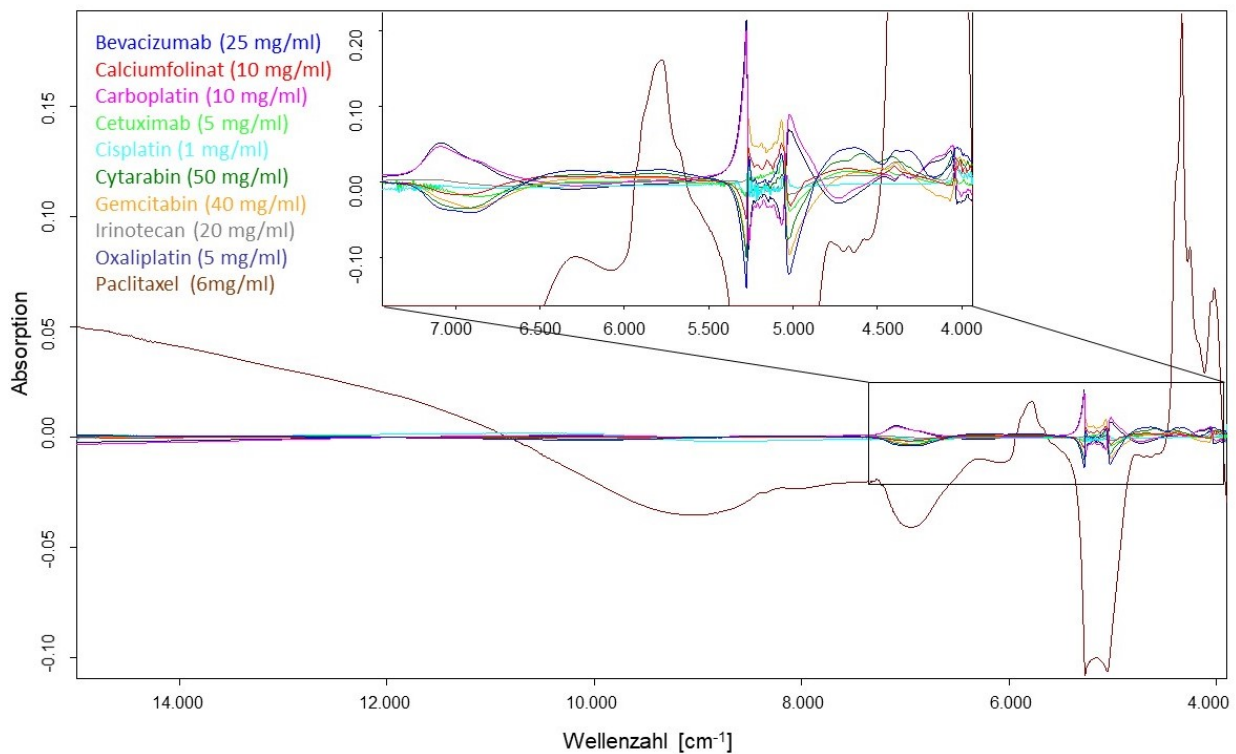
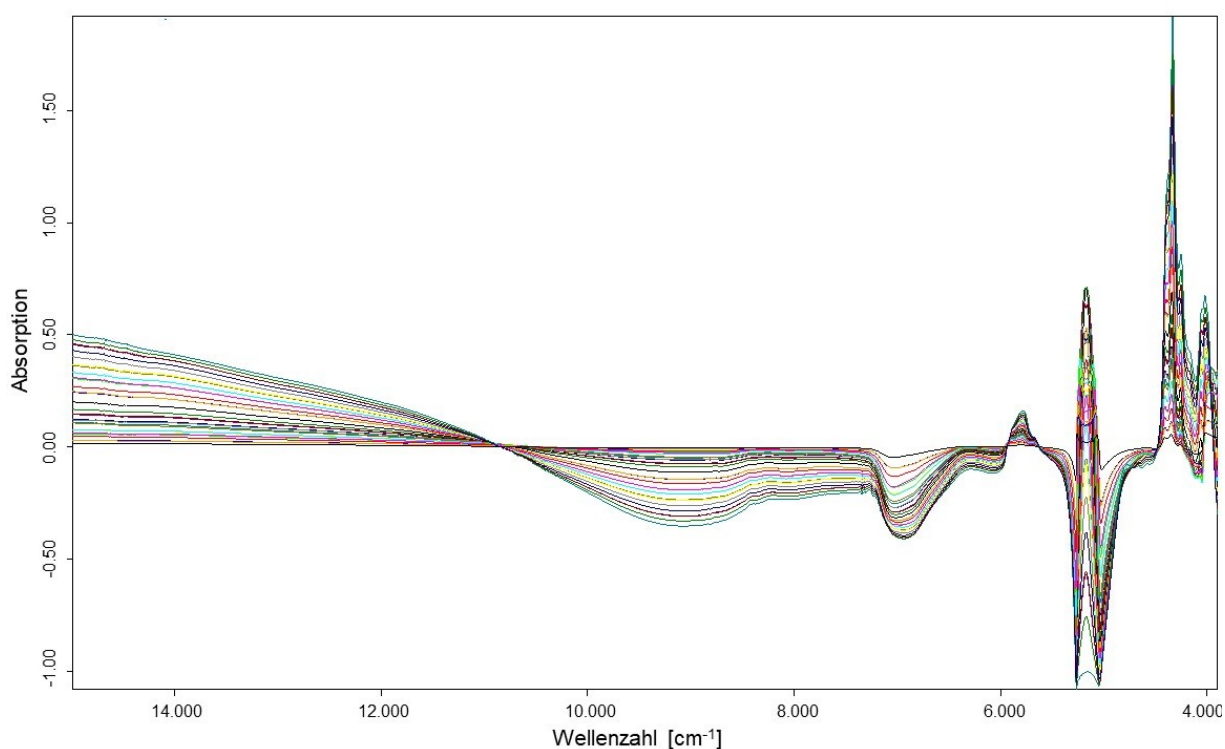


Abb. 18: Absorptionsspektren der FAM, gemessen mit Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer

Betrachtet man die Spektren von Paclitaxel (Abb. 19) treten auch bei Messungen mit dem FT-NIR-Spektrometer negative Absorptionsbanden auf (ca. 7.500 – 6.000  $\text{cm}^{-1}$ ), ebenfalls bedingt durch die Abnahme des Wassergehalts bei steigendem Wirkstoffgehalt. Im Gegenteil dazu steigt das Signal mit abnehmender Konzentration der Proben (und zunehmendem Wassergehalt) für die stärker absorbierenden OH-Kombinationsschwingungen im Bereich von ca. 5.400 – 4.900  $\text{cm}^{-1}$ . Die Absorptions-

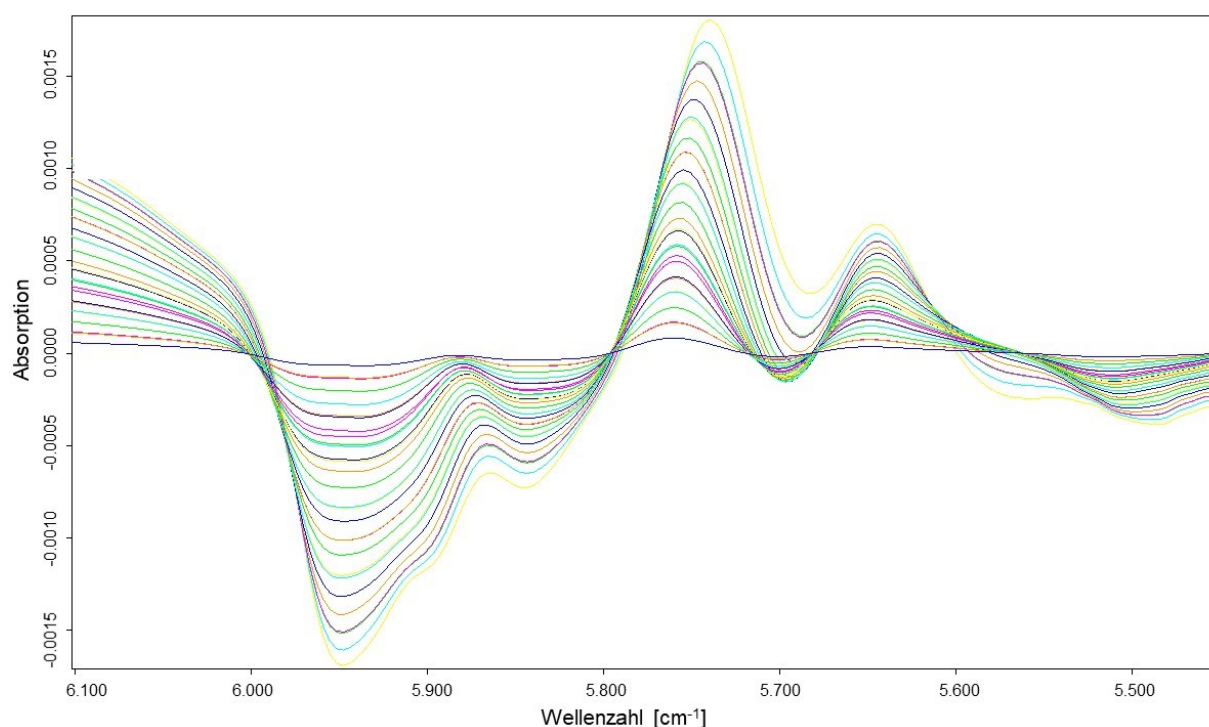
## Ergebnisse und Diskussion

bande zwischen den Wellenzahlen von 4.500 bis 4.100  $\text{cm}^{-1}$  ist auf die Kombinationsschwingungen der aliphatischen und aromatischen CH-Bindungen von Paclitaxel und Macrogolglycerolricinoleat zurückzuführen. Für die Erstellung der Kalibrierfunktion für Paclitaxel wurde von den Spektren für den Bereich der ersten Oberschwingung der CH-Streckschwingungen (6.102 – 5.450  $\text{cm}^{-1}$ ) die erste Ableitung berechnet und die starke Basislinienverschiebung durch die Subtraktion einer Geraden korrigiert (Abb. 20). Die so erhaltene Kalibrierfunktion hat mit  $R^2 = 99,97\%$  eine sehr gute Korrelation zwischen Spektren- und Referenzwerten und weist mit einem RMSECV von 0,0297 mg/ml eine prozentuale Abweichung von nur  $\pm 0,99\%$  vom arithmetischen Mittel der Referenzwertkonzentrationen auf.



*Abb. 19: Absorptionsspektren von Paclitaxel (0,3 – 6,0 mg/ml) in NaCl 0,9 %, gemessen mit Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer*

Die ausgewählten Spektralbereiche, die Datenvorbehandlungen sowie die Ergebnisse der Kreuzvalidierungen (LOOCV) für alle Wirkstoffe sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Da auch mit dem FT-NIR-Spektrometer für die Voruntersuchungen lediglich 30 Proben gemessen wurden, sind zur Vermeidung eines „overfittings“ die Kalibrierfunktionen mit maximal vier Faktoren berechnet worden (siehe auch Kapitel 4.3 Probenerstellung und Messplan).



*Abb. 20: Erste Ableitung + Subtraktion einer Geraden (6.102 – 5.450 cm<sup>-1</sup>) der Absorptionsspektren von Paclitaxel (0,3 – 6,0 mg/ml) in NaCl 0,9 %, gemessen mit Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer*

Der Bestimmungskoeffizient ist für alle Kalibrierfunktionen  $R^2 > 99 \%$  und außer für die Kalibrierfunktion für Cytarabin ( $R^2 = 99,7 \%$ ) sogar  $\geq 99,9 \%$ . Den kleinsten mittleren quadratischen Fehler der Kreuzvalidierung ergab die Kalibrierfunktion für Cisplatin mit  $RMSECV = 0,0075 \text{ mg/ml}$  und den größten die errechnete Kalibrierfunktion für Cytarabin mit  $RMSECV = 0,704 \text{ mg/ml}$ . Betrachtet man allerdings die daraus resultierende prozentuale Abweichung vom Mittelwert der Referenzwertkonzentrationen ist das Ergebnis für Carboplatin mit einer Abweichung von  $\pm 0,19 \%$  am geringsten und mit  $\pm 3,01 \%$  für Cytarabin am höchsten. Die prozentualen Abweichungen der Kalibrierfunktionen für alle Wirkstoffe liegen somit innerhalb der maximal tolerierten Abweichung von  $\pm 5 \%$ . Der Mittelwert der Referenzwerte entspricht allerdings nicht den mittleren Konzentrationen der Zubereitungen aus der Routineherstellung. Der durchschnittliche Wirkstoffgehalt der am UKD hergestellten Zubereitungen wurde daher retrospektiv anhand der Herstellungsdocumentation für die Jahre 2010 bis 2013 ermittelt und von diesem die prozentuale Abweichung des  $RMSECV$  errechnet (Tab. 8). Hier zeigt sich, dass für die Wirkstoffe Paclitaxel ( $\pm 6,19 \%$ ), Cisplatin ( $\pm 6,27 \%$ ), Irinotecan ( $\pm 9,36 \%$ ) und Cytarabin ( $\pm 22,71 \%$ ) die Abweichungen größer als die maximal tolerierten  $\pm 5 \%$

## Ergebnisse und Diskussion

sind. Die geringste Abweichung liefert die Kalibrierfunktion für Calciumfolinat mit  $\pm 0,59\%$ .

Wirkstoff	Konz.- bereich (mg/ml)	Ø Konz. (mg/ml)	Datenvor- behandlung	Spektralbereich (cm <sup>-1</sup> )	Faktor	R <sup>2</sup> (%)	RMSECV (mg/ml)	Abweich ung von Ø Konz. (±%)
Ca-Folinat	0,25 – 10	4,33	Subtraktion eines konstanten Offsets	6101,8 – 5774,0	2	99,99	0,0296	0,68
Carboplatin	0,25 – 10	4,33	Erste Ableitung	7501,8 – 6097,9; 4601,4 – 4246,6	4	100	0,0083	0,19
Cetuximab	1 – 5	2,96	Keine	4601,9 – 4248,7	4	99,99	0,0133	0,45
Bevacizumab	1 – 25	12,58	Erste Ableitung + Subtraktion einer Geraden	9403,3 – 7498,0; 4601,4 – 4246,6	2	99,99	0,0659	0,52
Gemcitabine	1 – 40	17,33	Subtraktion einer Geraden	6101,8 – 5450,0	3	99,99	0,0988	0,57
Cytarabin	1 – 50	23,35	Subtraktion eines konstanten Offsets	9403,3 – 5450,0	3	99,70	0,7040	3,01
Oxaliplatin	1 – 5	2,96	Erste Ableitung	9403,3 – 7498,0; 6101,8 – 5450,0; 4601,4 – 4246,6	4	100	0,0083	0,28
Paclitaxel	0,3 – 6	3,00	Erste Ableitung + Subtraktion einer Geraden	6101,8 – 5450,0	3	99,97	0,0297	0,99
Cisplatin	0,03 – 1	0,49	Subtraktion einer Geraden	6799,9 – 6097,9	4	99,93	0,0075	1,53
Irinotecan	0,6 – 20	9,96	Zweite Ableitung	8450,6 – 7498,0; 6101,8 – 5450,0	4	99,99	0,0571	0,57

Tab. 7: Ergebnisse der Kreuzvalidierung für die Voruntersuchungen mit dem Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer

Wirkstoff	Ø Konz. hergestellter Zubereitungen 2010 – 2013	RMSECV (mg/ml)	Abweichung von Ø Konz. (±%)
Ca-Folinat	5,03	0,0296	0,59
Carboplatin	1,06	0,0083	0,78
Cetuximab	1,33	0,0133	1,00
Bevacizumab	4,21	0,0659	1,57
Gemcitabine	5,18	0,0988	1,91
Cytarabin	3,10	0,7040	22,71
Oxaliplatin	0,26	0,0083	3,19
Paclitaxel	0,48	0,0297	6,19
Cisplatin	0,12	0,0075	6,27
Irinotecan	0,61	0,0571	9,36

Tab. 8: Prozentuale Abweichungen der RMSECV von den Mittelwerten der Wirkstoffkonzentrationen am UKD hergestellter Zubereitungen (2010 – 2013)

### 5.1.3 Zusammenfassung der Voruntersuchungen

Die Ergebnisse der Voruntersuchungen zeigen, dass mit dem Apo-Ident NIR-Spektrometer keine Kalibrierfunktionen mit ausreichender Güte für die quantitative Analyse wässriger Lösungen der untersuchten Wirkstoffe erstellt werden konnten. Die erhaltenen Kalibrierfunktionen sind nicht geeignet die Proben hinreichend genau zu analysieren. Lediglich für das wasserfreie FAM von Paclitaxel konnte eine Kalibrierfunktion mit ausreichender Korrelation zwischen Spektren- und Referenzwerten und einem RMSECV von 0,0394 mg/ml (entspricht  $\pm 1,31$  % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwertkonzentrationen) erstellt werden.

Die mit dem FT-NIR-Spektrometer erhaltenen Spektren weisen im Vergleich zu den Spektren, welche mit dem Apo-Ident NIR-Spektrometer aufgenommen wurden, komplexe Banden aus Absorptionssignalen des Wirkstoffs, der Hilfsstoffe und der jeweiligen Trägerlösung auf. Da beim Interferrometer, im Vergleich zum Monochromator, die Messung nicht sequenziell sondern simultan erfolgt, ist der Energieverlust des eingestrahnten Lichts geringer und somit die Signalintensität größer. Durch den aufwendigeren Geräteaufbau und die Messung in Transmission ist, wie zu erwarten war, auch das Signal-Rausch-Verhältnis und die Auflösung bei den FT-NIR-Spektren deutlich besser als bei den Spektren des Scanning-Grating NIR-Spektrometers. Die Messung in Transflexion mit dem Apo-Ident NIR-Spektrometer führt aufgrund der diffusen Rückstrahlung des eingestrahnten Lichts und der Tatsache, dass dieses das Probengefäß und die Probe zweimal passieren

muss, zu stärkeren Streueffekten und daher auch zu einem vermehrten Signalrauschen. Die Abdeckung eines größeren Messbereichs mit dem FT-NIR-Spektrometer liefert außerdem zusätzliche Signale der verschiedenen Kombinationschwingungen (Bereich ca. 5.000 – 3.900  $\text{cm}^{-1}$ ), was für die Wirkstoffe Cetuximab, Bevacizumab und Oxaliplatin zu den besseren Ergebnissen geführt hat.

Für die Erstellung der Paclitaxel-Kalibrierfunktion wurde für die Spektren von beiden Geräten der gleiche Spektralbereich ausgewählt. Mit einem mittleren Analysenfehler von 0,0297 mg/ml (entspricht  $\pm 0,99$  % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwertkonzentrationen) zeigt sich auch hier die Überlegenheit des FT-NIR-Spektrometers gegenüber dem Scanning-Grating-Gerät mit einem mittleren Analysenfehler von 0,0394 mg/ml (entspricht  $\pm 1,31$  % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwertkonzentrationen).

Für alle Wirkstoffe, die mit dem FT-NIR-Spektrometer gemessen wurden, konnte eine Kalibrierfunktion erstellt werden, welche eine ausreichend gute Analyse der Proben ermöglicht. Für die weitere Entwicklung der quantitativen NIRS-Methoden wurde daher das Bruker Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer ausgewählt.

Da es sich bei Calciumfolinat nicht um ein echtes Zytostatikum handelt, wurde es trotz des besten Ergebnisses bei den Voruntersuchungen nicht für die weiterführenden Betrachtungen berücksichtigt. Die vier Wirkstoffe mit der kleinsten prozentualen Abweichung vom durchschnittlichen Wirkstoffgehalt der 2010 bis 2013 am UKD hergestellten Zubereitungen (siehe Tab. 8) wurden für die weiteren Untersuchungen ausgewählt. Mit Bevacizumab und Cetuximab sind für die Erstellung der NIRS-Methoden zwei MAK und mit dem Pyrimidinanaloga Gemcitabin in 0,9%iger NaCl-Lösung und dem Platinderivat Oxaliplatin in 5%iger Glucose-Lösung zwei Vertreter der klassischen Zytostatika in unterschiedlichen Trägermedien vertreten.

## **5.2 Entwicklung quantitativer NIRS-Methoden**

### **5.2.1 NIRS-Methode zur Quantifizierung von Gemcitabin in NaCl 0,9 %**

Für die Erstellung der NIRS-Vorhersage-Methode der Konzentration von Gemcitabin in einer 0,9%igen Kochsalzlösung wurden insgesamt 150 Spektren in einem



## Ergebnisse und Diskussion

Konzentrationsbereich von 0,401 bis 40,1 mg/ml gemessen. Um den Einfluss der Trägerlösung und der Küvette zu reduzieren, wurde eine Hintergrundmessung mit einer 0,9%igen NaCl-Lösung durchgeführt. Die erhaltenen Spektren sind ein Ergebnis der Wechselwirkung des eingestrahlten Lichts mit dem Wirkstoff, den Hilfsstoffen, der Trägerlösung und dem Quarzglas der Küvette. Abbildung 21 zeigt die 30 Spektren für die Test-Set-Validierung ohne Datenvorbehandlung. Im Wellenzahlbereich größer  $7.500\text{ cm}^{-1}$  sind keine Absorptionsbanden sichtbar. Aufgrund der verhältnismäßig geringen Konzentration des Analyten werden dort die intensitätsarmen Absorptionsbanden der dritten Oberschwingungen nicht detektiert. Eine sehr starke Absorption tritt zwischen ca.  $5.400 - 4.900\text{ cm}^{-1}$  auf, welche durch die starke Absorption der Kombinationsschwingungen des Wassers verursacht wird. Auch bei Wellenzahlen kleiner  $4.000\text{ cm}^{-1}$  findet eine sehr starke Absorption statt. Diese wird verursacht durch das Siliziumdioxid der Quarzglasküvette, welches zwischen  $50.000$  bis  $4.000\text{ cm}^{-1}$  eine Transmission von mindestens 80 % des eingestrahlten Lichts gewährleistet, aber bei kleineren Wellenzahlen das Infrarotlicht sehr stark absorbiert (Abb. 22, blaues Spektrum „Quarzglas High Performance“). Diese Spektralbereiche können daher nicht für die Methodenerstellung genutzt werden.

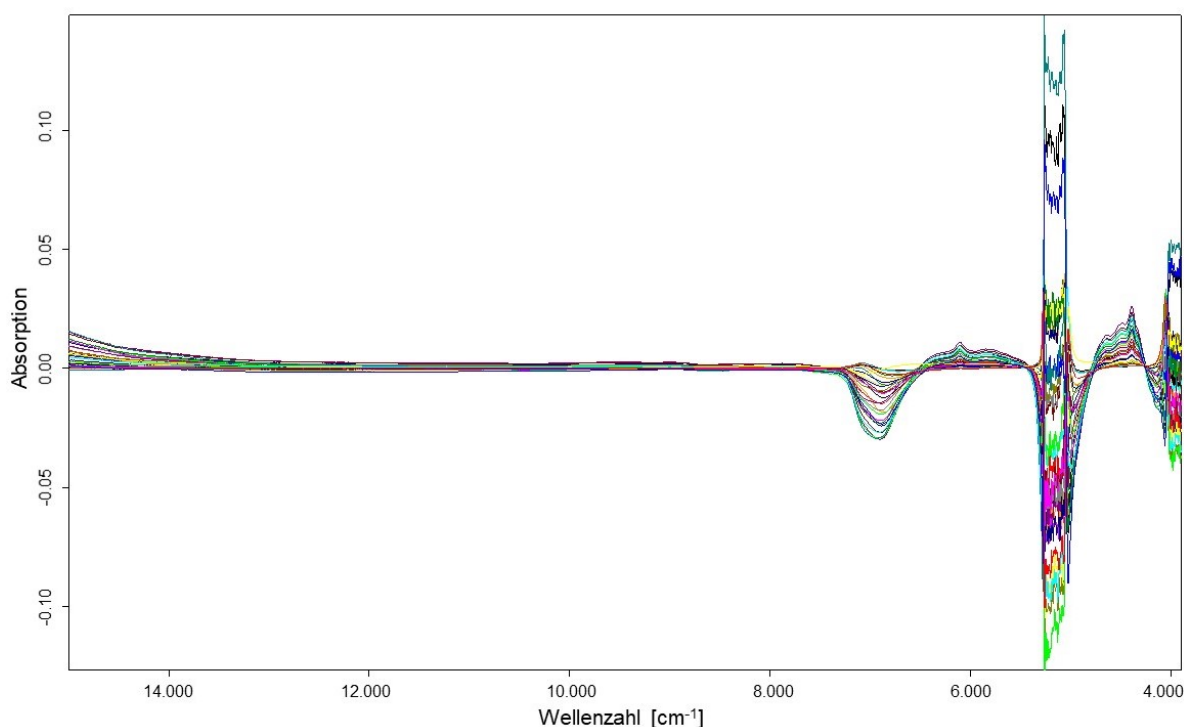


Abb. 21: Testspektren von Gemcitabin im Konzentrationsbereich 0,401 – 40,1 mg/ml (keine Datenvorbehandlung)

## Ergebnisse und Diskussion

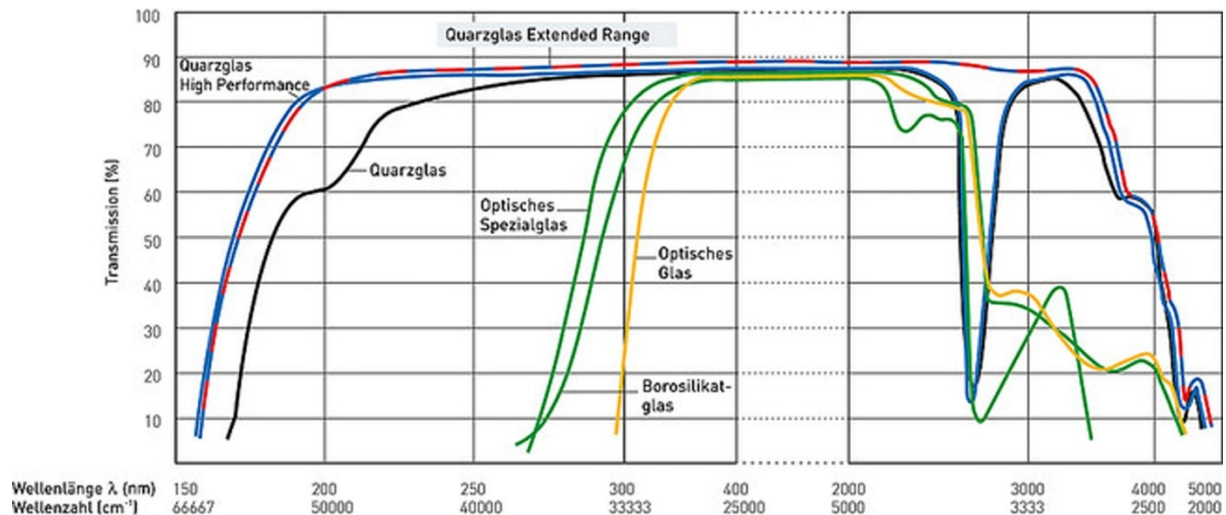


Abb. 22: Transmission von leeren Küvetten aus verschiedenen Gläsern (Hellma GmbH & Co. KG 2018)

Die negativen Absorptionswerte zwischen ca.  $7.500 - 6.400 \text{ cm}^{-1}$  sind auf die Abnahme des Wassersignals (erste Oberschwingung der OH-Streckschwingung) im Vergleich zur Hintergrundmessung zurückzuführen und weisen eine konzentrationsabhängige Änderung der Signalintensität auf. Zwischen  $6.400 - 5.450 \text{ cm}^{-1}$  (erste Oberschwingung der CH-Streckschwingung aliphatischer und aromatischer Kohlenwasserstoffe und erste Oberschwingung der NH-Streckschwingung) und zwischen  $4.600 - 4.250 \text{ cm}^{-1}$  (Kombinationsschwingungen aliphatischer und aromatischer Kohlenwasserstoffe) sind positive Absorptionsbanden mit einer konzentrationsabhängigen Signaländerung zu finden. Eine leichte Verschiebung der Basislinie der Spektren ist zu beobachten, was durch Reflexionen des Lichts an der Glasoberfläche der Küvette erklärt werden kann. Diese Verschiebung ist zwar im Verhältnis zu den Absorptionsbanden klein, aber eine Korrektur durch Subtraktion einer Geraden liefert die besseren Ergebnisse (siehe Tab. 9; Nr. 6 und 7).

Für die Ermittlung der optimalen Methodenparameter für die PLS-Regression wurde zuerst mittels Kreuzvalidierung der RMSECV für verschiedene Datenvorbehandlungen des gesamten Spektrums berechnet (Tab. 9; Nr. 1 – 5). Hieraus wird deutlich, dass sowohl mit der ersten Ableitung als auch mit der multiplikativen Streukorrektur nicht so kleine Werte für den RMSCV erreicht werden. Im zweiten Schritt wurden die drei Bereiche mit der konzentrationsabhängigen Absorptionsänderung sowohl einzeln als auch zusammen und in verschiedenen

## Ergebnisse und Diskussion

Kombinationen ausgewählt und nach Subtraktion eines konstanten Offsets, Subtraktion einer Geraden oder ohne Datenvorbehandlung mittels Kreuzvalidierung (LOOCV) der RMSECV errechnet. Die daraus erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 9 (Nr. 6 – 23) dargestellt.

Nr.	Spektralbereich (cm <sup>-1</sup> )	Datenvorbehandlung	Faktor	RMSECV (mg/ml)
1	ges. Spektrum	keine	10	0,1480
2	ges. Spektrum	Subtraktion einer Geraden	9	0,1460
3	ges. Spektrum	Subtraktion eines konstanten Offset	10	0,1480
4	ges. Spektrum	Multiplikative Streukorrektur (MSC)	2	10,7000
5	ges. Spektrum	Erste Ableitung	10	0,3390
6	7500 – 5450	Keine	7	0,0957
7	7500 – 5450	Subtraktion einer Geraden	5	0,0947
8	7500 – 5450	Subtraktion eines konstanten Offset	6	0,1020
9	7500 – 6100	Keine	8	0,1130
10	7500 – 6100	Subtraktion einer Geraden	5	0,1120
11	7500 – 6100	Subtraktion eines konstanten Offset	8	0,1090
12	6100 – 5450	Keine	6	0,1050
13	6100 – 5450	Subtraktion einer Geraden	4	0,1050
14	6100 – 5450	Subtraktion eines konstanten Offset	5	0,1070
15	4601 – 4248	Keine	4	0,1070
16	4601 – 4248	Subtraktion einer Geraden	3	0,1060
17	4601 – 4248	Subtraktion eines konstanten Offset	4	0,1080
18	7500 – 5450; 4601 – 4248	Keine	7	0,0971
19	7500 – 5450; 4601 – 4248	Subtraktion einer Geraden	5	0,0968
20	7500 – 5450; 4601 – 4248	Subtraktion eines konstanten Offset	7	0,0980
21	7500 – 6100; 4601 – 4248	Keine	8	0,1040
22	7500 – 6100; 4601 – 4248	Subtraktion einer Geraden	6	0,0988
23	7500 – 6100; 4601 – 4248	Subtraktion eines konstanten Offset	8	0,1030

*Tab. 9: Ergebnisse der Kreuzvalidierungen für die Entwicklung einer optimalen NIRS-Methode für Gemcitabin*

Vergleicht man die Werte des RMSECV bei Verwendung des gesamten Spektrums (Tab. 9; Nr. 1 – 5) im Vergleich zu den Ergebnissen für ausgewählte Spektralbereiche (Tab. 9; 6 – 23) wird deutlich, dass die Beschränkung auf diese Bereiche einen klaren Vorteil bringt. Vergleicht man die Ergebnisse der einzelnen Bereiche bzw. deren verschiedene Kombinationen untereinander, liefert der Spektrenabschnitt zwischen 7.500 bis 5.450 cm<sup>-1</sup> mit einem RMSECV von 0,0957 mg/ml den kleinsten Wert (Tab. 9; Nr. 6), welches sich durch die Subtraktion einer Geraden sogar noch optimieren lässt (Tab. 9; Nr. 7: RMSECV = 0,0947 mg/ml).

Abbildung 23 zeigt die 30 Testspektren nach Subtraktion einer Geraden im Bereich  $7.500 - 5.450 \text{ cm}^{-1}$ .

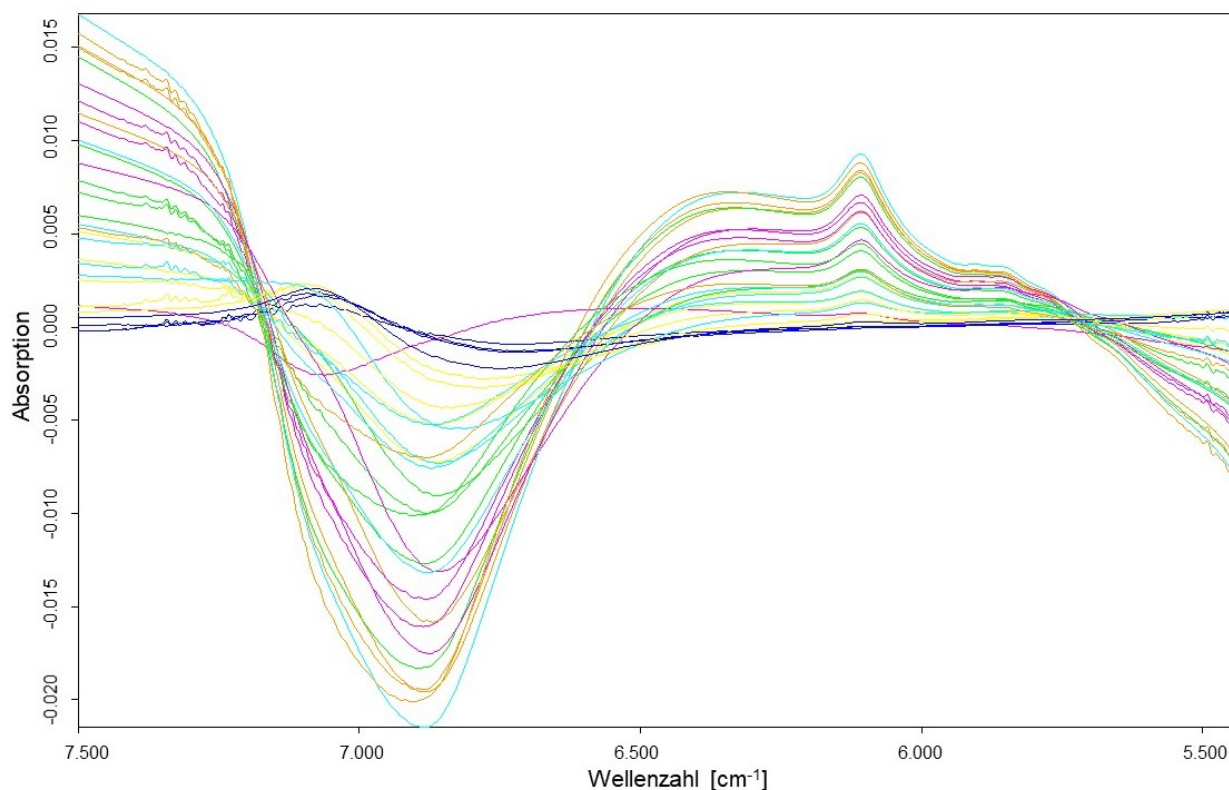


Abb. 23: Testspektren von Gemcitabin ( $0,401 - 39,3 \text{ mg/ml}$ ) nach Subtraktion einer Geraden im Bereich  $7.500,0 - 5.450 \text{ cm}^{-1}$

#### 5.2.1.1 Beurteilung der Güte der Methode für Gemcitabin

Nach Ermittlung der Methodenparameter für die optimale Kalibrierfunktion im ersten Schritt wurde für diese eine Test-Set-Validierung durchgeführt, um die Güte der Methode nachzuweisen. Dazu wurde jede fünfte Probe dem Test-Set zugeordnet, sodass das Kalibrations-Set 120 und das Test-Set 30 Proben umfasst. Die wichtigsten Ergebnisse sind in Tabelle 10 dargestellt. In den Vorhersage/Wahr-Plots sind die Referenzwerte (Wahr) gegen die aus der Kalibriergleichung berechneten Werten (Vorhersage) für die Proben des Kalibrierdatensets grafisch dargestellt (Anhang 35).

	Daten- vorbehandlung	Spektralbereich (cm <sup>-1</sup> )	Konz.- Bereich (mg/ml)	Bias (mg/ml)	Faktor	R <sup>2</sup> (%)	RPD	RMSECV (mg/ml)
Kreuz- validierung	Subtraktion einer Geraden	7500 – 5450	0,401 – 40,1	$7,3 \times 10^{-5}$	5	99,99	131	0,0947
	Daten- vorbehandlung	Spektralbereich (cm <sup>-1</sup> )	Konz.- Bereich (mg/ml)	Bias (mg/ml)	Faktor	R <sup>2</sup> (%)	RPD	RMSEP (mg/ml)
Test-Set- Validierung	Subtraktion einer Geraden	7500 – 5450	0,401 – 39,3	0,0137	5	100	202	0,0620

Tab. 10: Kurzübersicht der Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung für Gemcitabin in NaCl 0,9 %

Die mittleren quadratischen Fehler RMSECV und RMSEP mit Werten von 0,0947 mg/ml und 0,062 mg/ml weisen, bezogen auf den Mittelwert der Referenzwerte von 17,93 mg/ml, eine prozentuale Abweichung von  $\pm 0,53$  % bzw.  $\pm 0,35$  % von diesem auf. Damit ist die Vorgabe einer maximalen prozentualen Abweichung von  $\pm 5$  % erfüllt. Für die Berechnung des PLS-Regressionsmodells wurden jeweils fünf Faktoren verwendet (Abb. 24, a und b). Die Verwendung von sechs oder mehr Faktoren würde zwar den Wert des mittleren quadratischen Fehlers weiter reduzieren, jedoch zeigt sich durch den gleichzeitigen Anstieg des Bias ab dem sechsten Faktor (Bias = 0,0169), dass hierbei die Gefahr eines „overfittings“ besteht und unwichtige spektrale Strukturen vom Regressionsmodell mit erfasst werden. Bei der Verwendung von nur vier oder weniger Faktoren würden wichtige Informationen aus den Spektren nicht berücksichtigt werden und sich die Analysenergebnisse verschlechtern. Das wird deutlich durch größere Werte des mittleren quadratischen Fehlers bei weniger Faktoren.

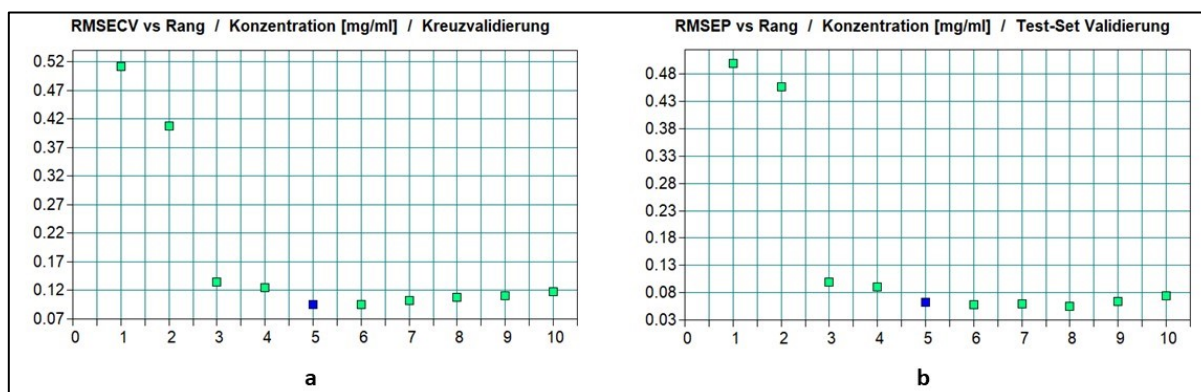


Abb. 24: RMSECV (a) und RMSEP (b) in mg/ml bezogen auf die Anzahl der verwendeten PLS-Faktoren für die Vorhersagemethode der Gemcitabin-Konzentrationswerte (blaue Markierung: von OPUS®-Software vorgeschlagener PLS-Faktor)

Mit Bestimmungskoeffizienten von  $R^2 = 99,99 \%$  für die Kreuzvalidierung und  $R^2 = 100 \%$  für die Test-Set-Validierung wird die sehr gute Korrelation zwischen Referenz- und Vorhersagewerten für diese Methode gezeigt. Auch der Bias hat mit 0,0137 für die Test-Set-Validierung und mit  $7,3 \times 10^{-5}$  für die Kreuzvalidierung Werte nahe Null. Der RPD-Wert wird als Indikator für die Qualität von Vorhersage-Methoden errechnet und soll möglichst hohe Werte einnehmen. Mit einem RPD von 131 für die Kreuzvalidierung und einem RPD von 202 für die Test-Set-Validierung wird diese Vorgabe erreicht.

Mögliche Ausreißer, die von der Spektroskopie-Software anhand eines großen F Value erkannt wurden, sind nicht aus den Proben-Sets entnommen wurden, da keine Fehler bei der Probenerstellung oder -messung festgestellt werden konnten. Eine fälschliche Entnahme hätte somit zu scheinbar besseren Ergebnissen geführt, aber die Variabilität im Proben-Set gemindert und somit die Methode weniger robust gemacht.

#### **5.2.1.2 Validierung der Methode für Gemcitabin**

Die Ergebnisse der internen Validierung mittels Kreuz- und Test-Set-Validierung haben die Güte der entwickelten Vorhersage-Methode nachgewiesen. Zum Nachweis der Leistungsfähigkeit der Methode wurde eine externe Validierung mit einem unabhängigen Validier-Set (70 Proben) durchgeführt und ein Genauigkeitsprofil erstellt (Abb. 25). Die Proben für die Validierung decken einen Konzentrationsbereich von 0,804 bis 38,38 mg/ml ab. Für das Genauigkeitsprofil wurde ein Akzeptanzlimit von maximal  $\pm 5 \%$  und ein Konfidenzintervall mit einer Sicherheit von 95 % für die Wiederfindungsraten festgelegt. Die Bestimmungsgrenze, im folgenden Lower Limit Of Quantification (LLOQ) genannt, wurde graphisch für die kleinste Konzentration, die noch innerhalb des festgelegten Akzeptanzlimits mit einem Risiko von 5 % liegt, ermittelt (Schnittpunkt des Graphen der Konfidenzintervalle mit dem Akzeptanzlimit) und beträgt 3,22 mg/ml. Das bedeutet, dass mit einer Sicherheit von 95 % jede Probe im Konzentrationsbereich von 3,22 mg/ml bis 38,38 mg/ml, die mit der NIRS-Methode bestimmt wird, eine maximale Abweichung von  $\pm 5 \%$  von ihrem tatsächlichen Wert aufweist. Anhand des

## Ergebnisse und Diskussion

Genauigkeitsprofil wird außerdem deutlich, dass kleine Konzentrationswerte von der NIRS-Methode eher überschätzt werden, das heißt die Konzentration fälschlicherweise als zu hoch vorhergesagt wird.

Die Wiederholpräzision (= zufälliger Fehler) wurde als relative Standardabweichung der gemessenen Konzentrationswerte bestimmt und sollte über den gesamten Konzentrationsbereich nicht größer als 0,5 % sein. Mit einem Wert von 0,13 % wird diese Vorgabe erfüllt.

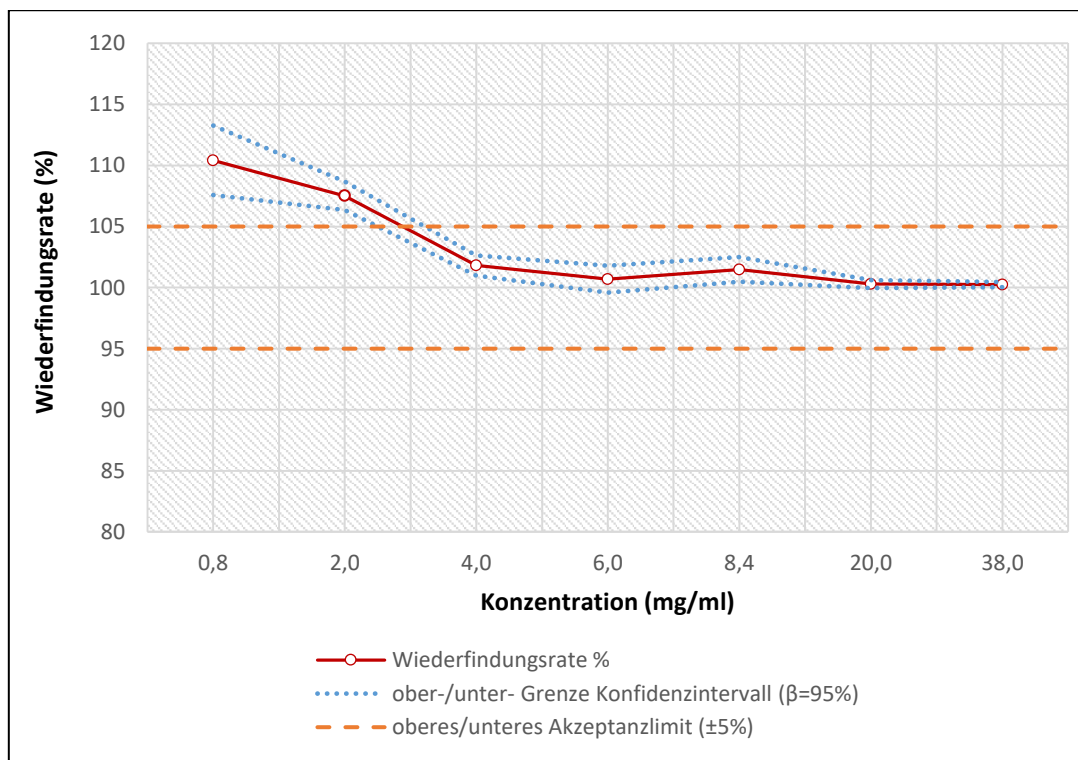


Abb. 25: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Gemcitabin in NaCl 0,9 %

Abbildung 26 zeigt das Korrelationsdiagramm zwischen den mit der NIRS-Methode bestimmten Werten und den Referenzwerten. Der Korrelationskoeffizient  $R^2 \geq 0,99$  bestätigt, dass die Konzentration der unabhängigen Validierungsproben mit der NIRS-Methode sehr gut bestimmt werden kann. Mit einer Steigung der Regressionsgeraden von 0,9997 und dem Schnittpunkt mit der Ordinate bei 0,0938 ist die Linearität der Methode über den Konzentrationsbereich von 0,804 bis 38,38 mg/ml nachgewiesen.



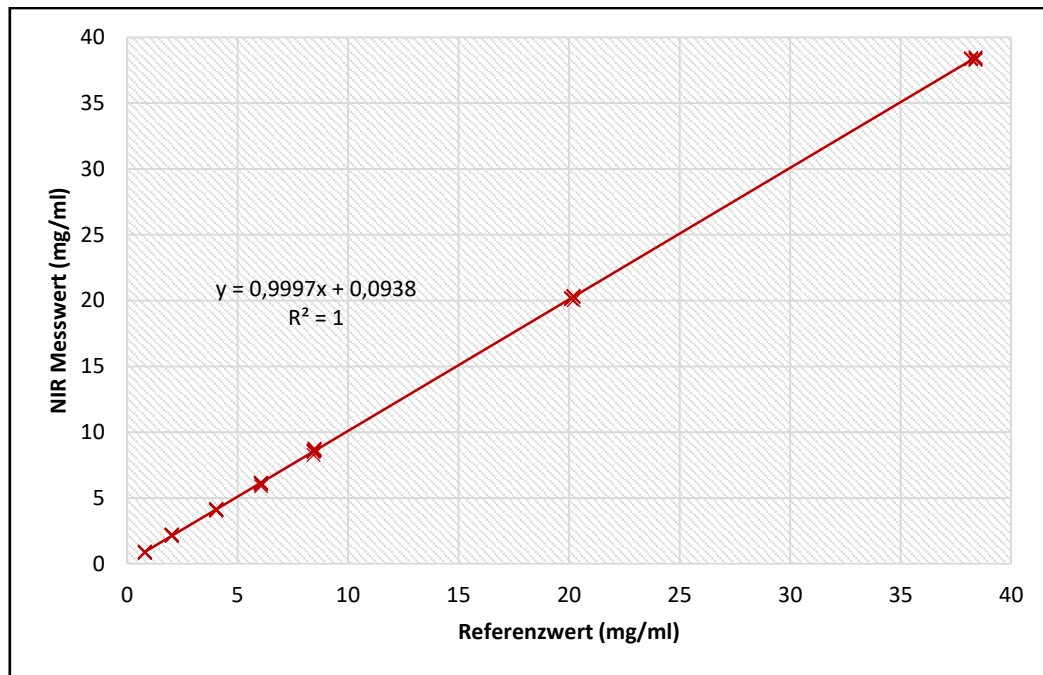


Abb. 26: Korrelationsdiagramm zwischen den Referenzwerten und den gemessenen Werten für die NIRS-Methode für Gemcitabin in NaCl 0,9 %

Die Robustheit der Methode ist sichergestellt, da in den Proben für die Methodenentwicklung eine größtmögliche Variabilität abgebildet ist. So sind für die Proben unterschiedliche Chargen sowohl des verwendeten FAM wie auch der Trägerlösung verwendet worden und die Messungen wurden an mehreren unterschiedlichen Tagen durchgeführt.

Die Spezifität weist die Fähigkeit einer Methode, den betreffenden Analyten auch in Gegenwart anderer Komponenten bewerten zu können, nach und stellt eine Voraussetzung für eine analytische Methodvalidierung dar. PLS-Methoden reichen jedoch nicht aus, um die Identifizierung der Analyten sicherzustellen. Aktuell können die Lösungen der vier in dieser Arbeit untersuchten Wirkstoffe lediglich optisch anhand ihrer Infrarotspektren unterschieden und identifiziert werden. Sollte die Analytik mittels NIRS in der Routine zum Einsatz kommen, müsste eine Referenzdatenbank mit Spektren aller eingesetzten Wirkstoffe und FAM angelegt werden und eine Ident-Methode erstellt und validiert werden. Da aktuell mehr als hundert verschiedene Wirkstoffe zur parenteralen Applikation in der Onkologie eingesetzt werden, würde die Anlage einer solchen Spektrenbibliothek jedoch den Rahmen dieser Arbeit übersteigen.



### 5.2.1.3 Vergleich mit einer bereits vorhandenen Methode für Gemcitabin in NaCl 0,9 %

Le et al. haben 2014 eine Pilotstudie durchgeführt, um die Machbarkeit einer NIRS-Analytik von Zytostatika in wässriger Matrix zu untersuchen. Dabei haben sie eine NIRS-Vorhersage-Methode für eine Charge des FAM Gemcitabin Mylan 40 mg/ml (weitere Bestandteile sind Ethanol, Wasser für Injektionszwecke, Salzsäure und Natriumhydroxid) in 0,9%iger NaCl-Lösung (Freeflex, Fresenius Kabi) entwickelt. Sie haben fünf Serien mit zehn unterschiedlichen Konzentrationsstufen von 1 – 40 mg/ml in drei 2 ml Standard-Glasküvetten (Schichtdicke nicht angegeben) mit einem Bruker Vector FT-NIR-Spektrometer (Auflösung 8 cm<sup>-1</sup>; 64 Scans je Probe) gemessen, um insgesamt 150 Spektren zu erhalten. Als Hintergrundmessung wurde eine mit 0,9%iger NaCl-Lösung befüllte Glasküvette gemessen. Die Spektren wurden anschließend in Kalibrations-Set (90 Spektren) und Test-Set (60 Spektren) unterteilt und die genaue Konzentration mittels HPLC bestimmt. Die Ergebnisse ihrer Methodenentwicklung sind in Tabelle 11 dargestellt.

Daten-vorbehandlung	Spektralbereich (cm <sup>-1</sup> )	Konz.-bereich (mg/ml)	Bias	Faktoren	R <sup>2</sup> (%)	RPD	RMSECV (mg/ml)	RMSEP (mg/ml)
keine	8948 – 8470; 8404 – 8265	1,0 – 40,0	0,0342	3	99,99	125	0,1390	0,1080

Tab. 11: Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung der NIRS-Methode für Gemcitabin in NaCl 0,9 % von Le et al. 2014

Die von Le et al. erstellte NIRS-Methode kommt mit der Verwendung von drei Faktoren für die PLS-Regression aus. Die Werte für Bestimmungskoeffizient und RPD sind vergleichbar mit den Ergebnissen der für die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Methode. Die Werte für Bias (0,0342 mg/ml), RMSECV (0,139 mg/ml) und RMSEP (0,108 mg/ml) liegen ebenfalls in einer vergleichbaren Größenordnung, sind aber geringfügig größer. Die von Le et al. ausgewählten Spektralbereiche (8.948 – 8.470 cm<sup>-1</sup> und 8.404 – 8.265 cm<sup>-1</sup>) weisen eine Absorptionsbande auf, die auf die zweiten Oberschwingungen der CH-Streckschwingung zurückzuführen ist. In den Gemcitabin-Spektren, die im Rahmen dieser Arbeit gemessen worden sind, tritt diese Absorptionsbande nicht auf (siehe Abb. 19). Das verwendete FAM Gemcitabin Mylan 40 mg/ml enthält, im Gegensatz zum in dieser Arbeit untersuchten Gemcitabin Hexal®, als Hilfsstoff Ethanol. Dieses absorbiert in dem Spektralbereich von ca. 9.000

## Ergebnisse und Diskussion

–  $8.000\text{ cm}^{-1}$  das NIR-Licht (Abb. 27), weshalb davon auszugehen ist, dass die NIRS-Methode von Le et al. die Gemcitabin-Konzentration indirekt über das im FAM enthaltene Ethanol bestimmt.

Für die Methodenvvalidierung wurde ebenfalls ein Genauigkeitsprofil angefertigt, jedoch unter Verwendung der Proben aus dem Kalibrations-Set und mit Akzeptanzlimits von  $\pm 15\%$ . Die Bestimmungsgrenze liegt bei  $2,0\text{ mg/ml}$ . Um eine bessere Vergleichbarkeit der beiden Methoden zu ermöglichen, wurde auch für die im Rahmen dieser Arbeit angefertigte Methode ein Genauigkeitsprofil mit Akzeptanzlimits von  $\pm 15\%$  erstellt (Abb. 28). Das daraus resultierende LLOQ liegt unterhalb des untersuchten Konzentrationsbereichs und beträgt, nach Extrapolieren der Geraden,  $0,35\text{ mg/ml}$ . Es liegt damit deutlich unterhalb der von Le et al. ermittelten Bestimmungsgrenze. Die weiteren untersuchten Validierungsparameter wie z. B. Linearität, Spezifität und Präzision erfüllen ebenfalls die Anforderungen und weisen somit die Leistungsfähigkeit der Methode nach.

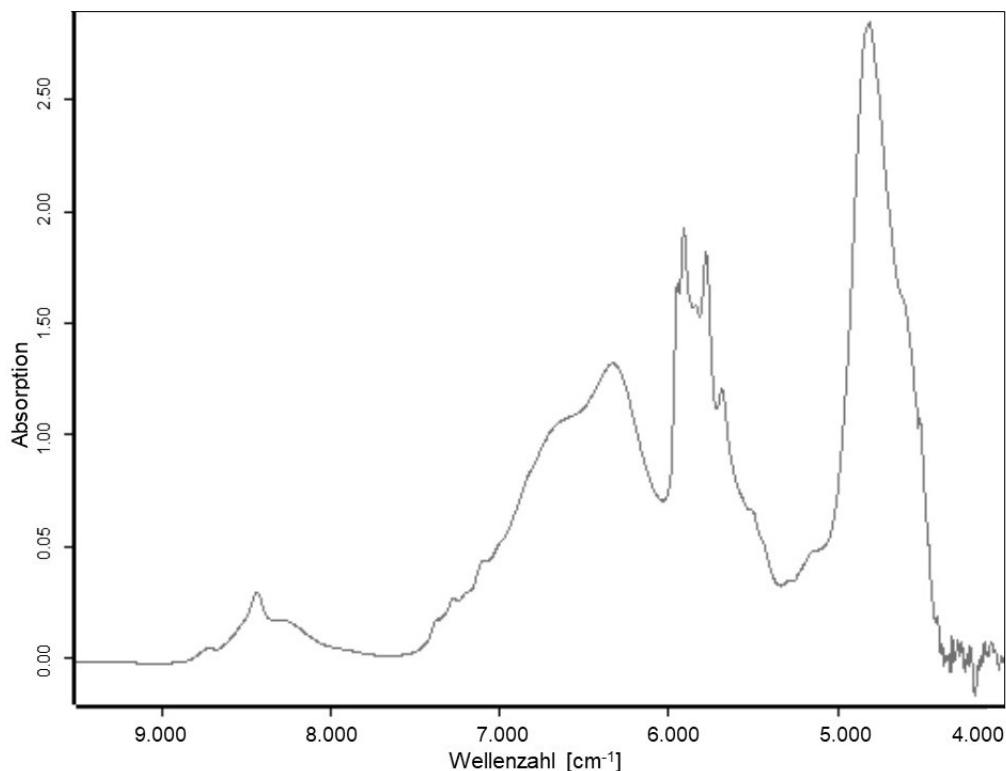


Abb. 27: NIR-Spektrum von reinem Ethanol; (Bruker Optik GmbH 2011)

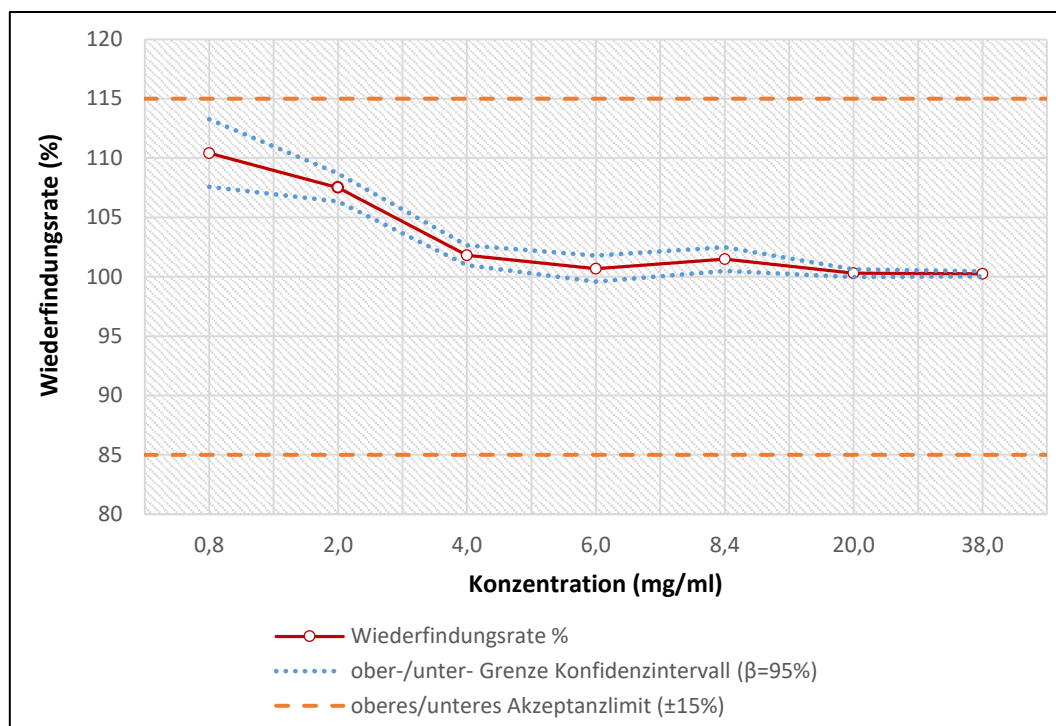


Abb. 28: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Gemcitabin (Akzeptanzlimits =  $\pm 15\%$ )

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte NIRS-Methode zur Bestimmung der Gemcitabin-Konzentration in NaCl 0,9 %-Lösung liefert bessere Ergebnisse, was auf die Auswahl der verwendeten Spektralbereiche, die Aufnahme der Spektren mit einer Auflösung von  $6\text{ cm}^{-1}$  und 100 Scans je Probe und die Abwesenheit von Ethanol im FAM zurückgeführt werden kann. Durch die Verwendung von insgesamt 150 unterschiedlichen Proben aus mehreren Chargen sowohl des FAM als auch der Trägerlösung und die Messung der Proben verteilt auf mehrere Tage ist die Variabilität in den Kalibrationsproben größer als in den Proben von Le et al., weshalb die Robustheit der Methode gesteigert ist.

### 5.2.2 NIRS-Methode zur Quantifizierung von Carboplatin in Glucose 5 %

Insgesamt 146 Spektren von Proben in einem Konzentrationsbereich von  $0,0497 - 9,94\text{ mg/ml}$  wurden für die Erstellung der Methode gemessen. Aufgrund von Abweichungen während der Herstellung wurden 4 Proben verworfen. Die Hintergrundmessung erfolgte mit einer mit Trägerlösung gefüllten Küvette. Abbildung 29 zeigt die 30 Testspektren ohne Datenvorbehandlung. Wie auch bei den Gemcitabin-Spektren, treten, bedingt durch das enthaltene Wasser und das

Quarzglas der Küvette, sehr starke Absorptionen in den Bereichen zwischen ca.  $5.400 - 4.900 \text{ cm}^{-1}$  und kleiner  $4.000 \text{ cm}^{-1}$  auf. Auch bei den Wellenzahlen größer  $7.500 \text{ cm}^{-1}$  sind keine klaren Absorptionsbanden mehr erkennbar (dritte Oberschwingungen). Daher können diese Wellenzahlenbereiche für die Erstellung der Carboplatin-NIRS-Methode nicht genutzt werden. Eine konzentrationsabhängige Steigerung der Intensität der Absorptionsbanden zwischen ca.  $7.500 - 6.450 \text{ cm}^{-1}$  ist auf die Zunahme des Wassersignals (erste Oberschwingung der OH-Streckschwingung) im Vergleich zur Hintergrundmessung zurückzuführen (CARBO-cell® enthält neben Carboplatin nur Wasser für Injektionszwecke als weiteren Bestandteil). Auch die Absorption der ersten Oberschwingung der NH-Streckschwingung der Diammin-Struktur des Wirkstoffs bewirkt eine Steigerung der Absorptionsintensität in diesem Wellenzahlenbereich. Weiterhin ist ein großer Beitrag der Glukose aus der Trägerlösung in den Spektrenstrukturen zu beobachten. So treten durch die abnehmende Glukosekonzentration bei gleichzeitig zunehmender Wirkstoffkonzentration in den Proben zwischen ca.  $6.450 \text{ cm}^{-1}$  und  $5.450 \text{ cm}^{-1}$  (erste Oberschwingung der Streckschwingung der CH-Bindungen in Glukose) und im Bereich von ca.  $4.800$  bis  $4.500 \text{ cm}^{-1}$  (Kombinationsschwingungen der Hydroxylgruppen der Glukose) negative Absorptionssignale auf. Die Intensität dieser Banden weist jedoch auch eine Änderung in Abhängigkeit zur Wirkstoffkonzentration auf.

Die optimalen Methodenparameter wurden analog dem Vorgehen bei der Gemcitabin-Methode ermittelt. Für mehrere Spektralbereiche (besonders die mit einer konzentrationsabhängigen Änderung der Absorptionsintensität) und diverse Kombinationen von Spektralbereichen wurde nach Anwendung unterschiedlicher Datenvorbehandlungen mittels Kreuzvalidierung (LOOCV) der RMSECV errechnet. Das beste Ergebnis lieferte die Kombination der Wellenzahlbereiche von  $7.357 - 5.558 \text{ cm}^{-1}$  und  $4.835 - 4.517 \text{ cm}^{-1}$  nach Korrektur der Spektren durch Subtraktion eines konstanten Offsets (Abb. 30).

## Ergebnisse und Diskussion

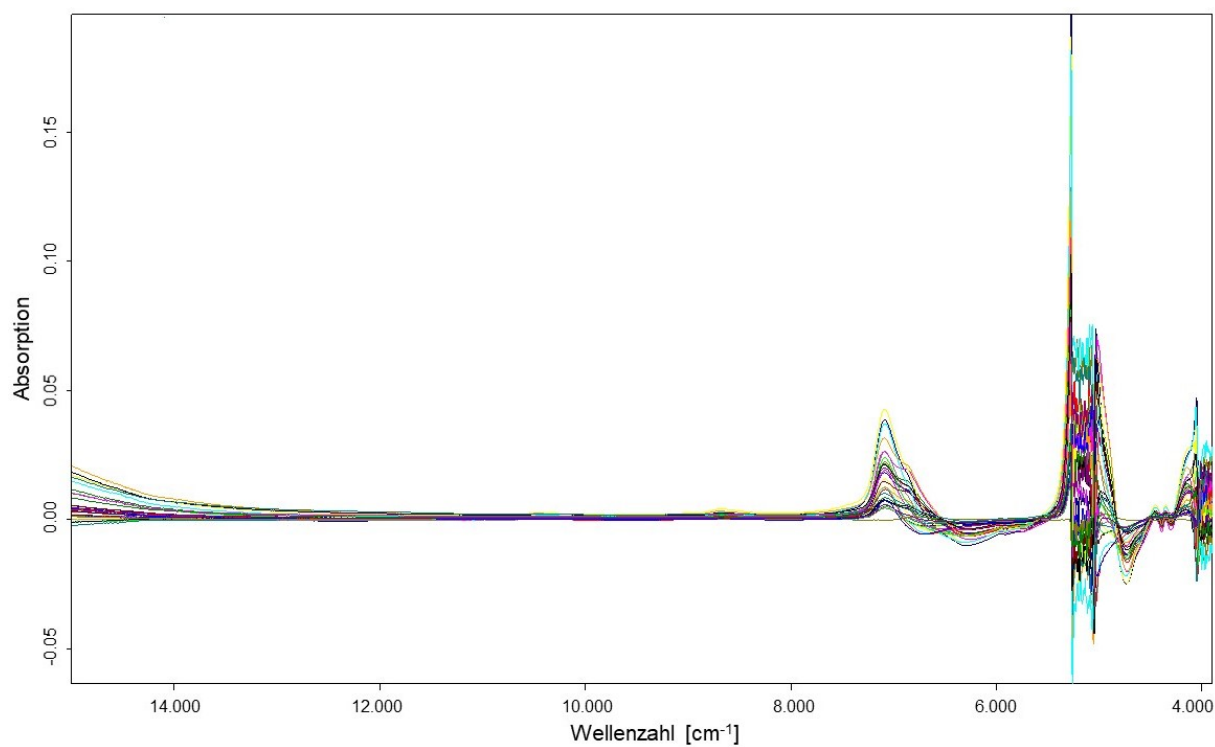


Abb. 29: Testspektren von Carboplatin im Konzentrationsbereich 0,0994 – 9,94 mg/ml (keine Datenvorbehandlung)

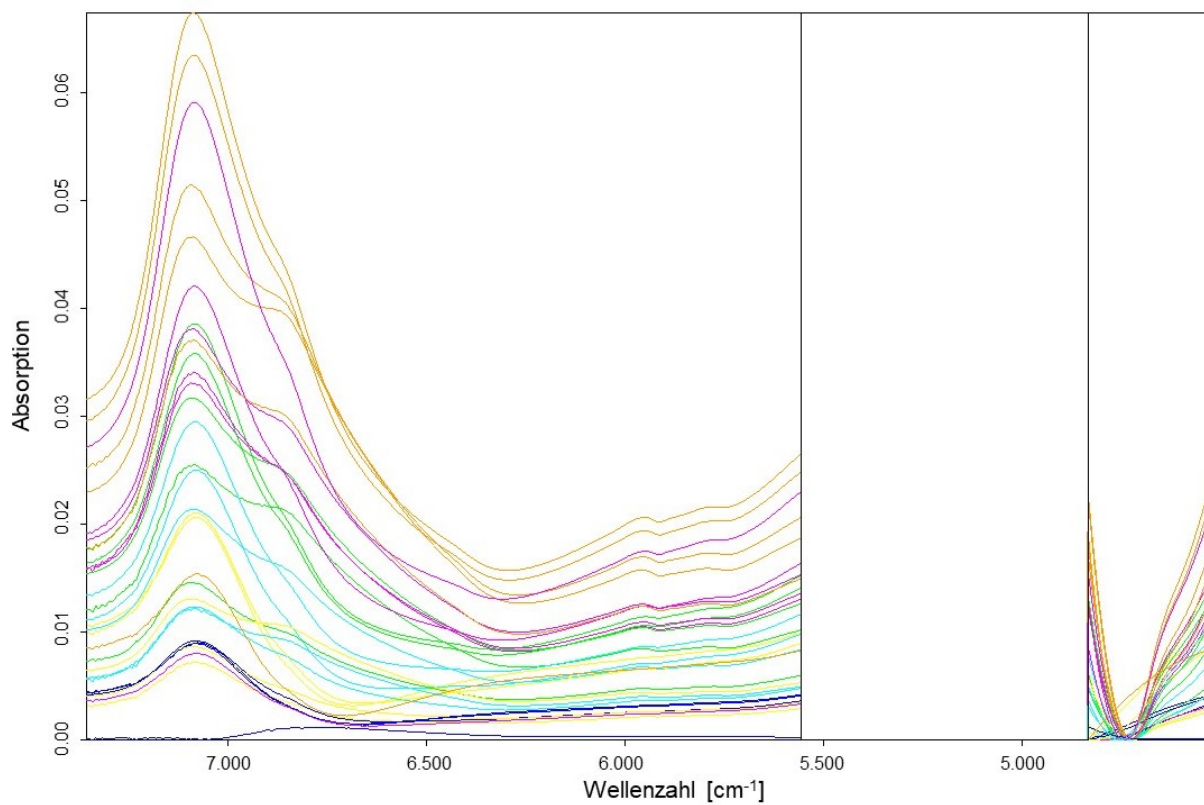


Abb. 30: Testspektren von Carboplatin (0,0994 – 9,94 mg/ml) nach Subtraktion eines konstanten Offsets im Bereich 7,357 – 5,558  $\text{cm}^{-1}$  und 4,835 – 4,517  $\text{cm}^{-1}$

### 5.2.2.1 Beurteilung der Güte der Methode für Carboplatin

Für die Test-Set-Validierung wurde jede fünfte Probe dem Test-Set zugewiesen (30 Proben). In Tabelle 12 sind die wichtigsten Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung zusammengefasst. In den Vorhersage/Wahr-Plots sind die Referenzwerte (Wahr) gegen die aus der Kalibriergleichung berechneten Werten (Vorhersage) für die Proben des Kalibrierdatensets grafisch dargestellt (Anhang 35).

	Daten- vorbehandlung	Spektralbereich (cm <sup>-1</sup> )	Konz.- Bereich (mg/ml)	Bias (mg/ml)	Faktor	R <sup>2</sup> (%)	RPD	RMSECV (mg/ml)
Kreuz- validierung	Subtraktion eines konst. Offsets	7357 – 5558; 4835 – 4517	0,0497 – 9,94	5,36 x 10 <sup>-4</sup>	8	99,99	89,4	0,0335
	Daten- vorbehandlung	Spektralbereich (cm <sup>-1</sup> )	Konz.- Bereich (mg/ml)	Bias (mg/ml)	Faktor	R <sup>2</sup> (%)	RPD	RMSEP (mg/ml)
Test-Set- Validierung	Subtraktion eines konst. Offsets	7357 – 5558; 4835 – 4517	0,0994 – 9,94	-4,78 x 10 <sup>-4</sup>	8	99,99	103	0,0279

Tab. 12: Kurzübersicht der Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung für Carboplatin

Die OPUS® Software zur Erstellung der NIRS-Methode empfiehlt für die Kreuzvalidierung die Verwendung von neun Faktoren und für die Test-Set-Validierung die Verwendung von zehn Faktoren, jedoch erfolgt ab dem achten Faktor keine signifikante Verkleinerung der mittleren quadratischen Fehler mehr (Abb. 31). Zur Vermeidung eines „overfittings“ wurde deshalb die Anzahl der verwendeten Faktoren auf acht beschränkt. Die so erstellte Methode erfüllt mit einem RMSECV von 0,0335 mg/ml (entspricht ±0,84 % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwerte) und einem RMSEP von 0,0279 mg/ml (entspricht ±0,7 % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwerte), bei einer mittleren Konzentration der Referenzwerte von 4,0 mg/ml, die Vorgabe an die maximale prozentuale Abweichung von ±5 %. Neben einem RPD von 89,4 für die Kreuz- bzw. 103 für die Test-Set-Validierung zeichnet sich die Methode durch Bestimmungskoeffizienten von R<sup>2</sup> > 99 % und einem Bias, der nicht signifikant von Null abweicht, aus.

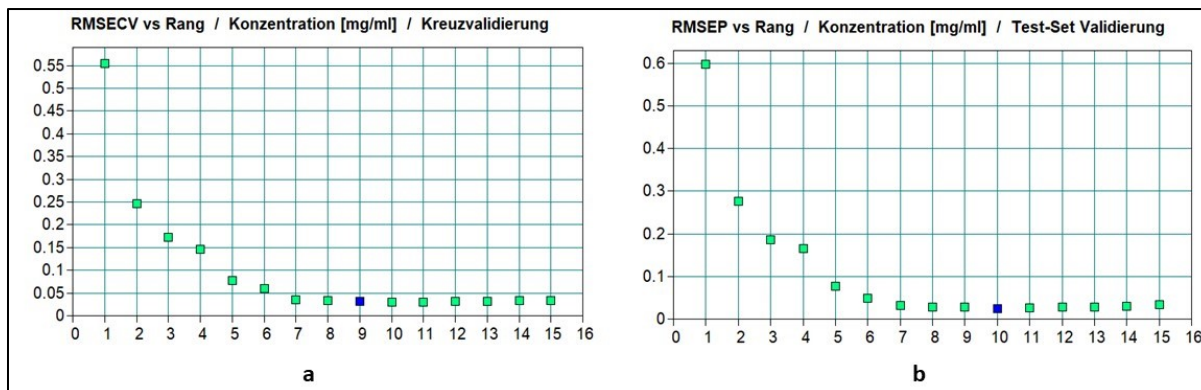


Abb. 31: RMSECV (a) und RMSEP (b) in mg/ml bezogen auf die Anzahl der verwendeten PLS-Faktoren für die Vorhersagemethode der Carboplatin-Konzentrationswerte (blaue Markierung: von OPUS®-Software vorgeschlagener PLS-Faktor)

Da fehlerbehaftete Proben bereits vor der Messung der NIR-Spektren aus dem Proben-Set entfernt worden sind und um die Variabilität in den Proben nicht zu mindern, wurden die von der Software als mögliche Ausreißer erkannte Proben nicht aus dem Kalibrations-Set entfernt.

### 5.2.2.2 Validierung der Methode für Carboplatin

Der Nachweis der Leistungsfähigkeit der entwickelten Methode wurde ebenfalls mittels unabhängigem Validier-Set (70 Proben) und Erstellung eines Genauigkeitsprofils durchgeführt (Abb. 32). Der Konzentrationsbereich der Proben erstreckt sich über 0,198 – 9,77 mg/ml. Proben bis zu einer Konzentration von ca. 2,0 mg/ml werden von der NIRS-Methode zwar minimal überschätzt, weisen aber nur eine sehr geringe Streuung der Messwerte auf. Die Proben mit einer Konzentration zwischen 2,0 mg/ml und der grafisch ermittelten Bestimmungsgrenze (LLOQ = 1,45 mg/ml) werden von der Methode eher unterschätzt, können aber mit einer Sicherheit von 95 % noch innerhalb der Akzeptanzlimits von  $\pm 5$  % vorhergesagt werden.

Die Wiederholpräzision der Methode übersteigt einen Wert von 0,05 % über den gesamten Konzentrationsbereich nicht. Die Linearität ist über den kompletten validierten Konzentrationsbereich durch eine Steigung der Regressionsgeraden von 1,0132 und einem Schnittpunkt mit der Y-Achse bei -0,0163 gesichert. Die Korrelation zwischen den Referenzwerten und den von der NIRS-Methode

## Ergebnisse und Diskussion

vorhergesagten Werten ist mit einem Korrelationskoeffizienten von  $R^2 = 0,9998$  nachgewiesen (Abb. 33).

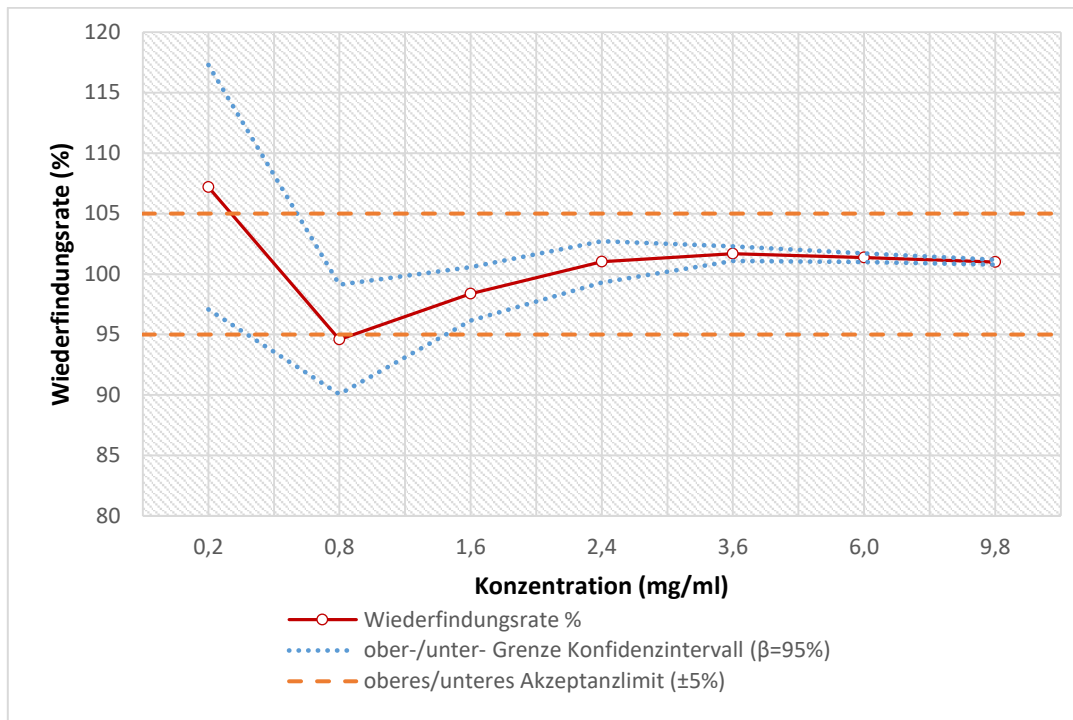


Abb. 32: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Carboplatin

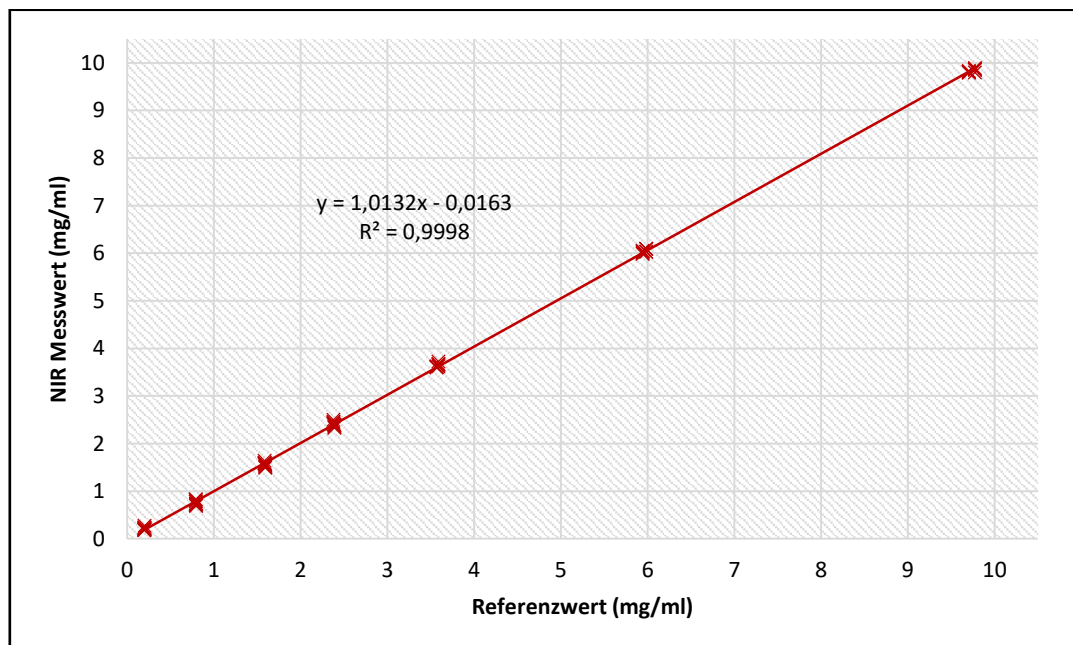


Abb. 33: Korrelationsdiagramm zwischen den Referenzwerten und den gemessenen Werten für die NIRS-Methode für Carboplatin



Für die Robustheit und Spezifität der Methode gelten die gleichen Annahmen wie für die Gemcitabin-Methode. Die Robustheit ist durch größtmögliche Variabilität in den Kalibrationsproben gesichert. Die Spezifität ist bei PLS-Methoden nicht gegeben und kann für die vier untersuchten Wirkstoffe nur durch optische Unterscheidung und Identifizierung der Infrarotspektren sichergestellt werden.

### 5.2.3 NIRS-Methode zur Quantifizierung von Bevacizumab in NaCl 0,9 %

Für die NIRS-Methode für Bevacizumab wurden die Spektren von 150 Proben in einem Konzentrationsbereich von 0,25 – 25,0 mg/ml mit dem Spektrometer erfasst, nachdem eine Hintergrundmessung mit Trägerlösung in der Küvette durchgeführt wurde. Abbildung 34 zeigt die Spektren der 30 Testspektren ohne Datenvorbehandlung.

Die bereits für die Spektren von Gemcitabin und Carboplatin beschriebenen sehr starken Absorptionen (ca. 5.400 – 4.900  $\text{cm}^{-1}$  und kleiner 4.000  $\text{cm}^{-1}$ ) und bandenfreien Spektralbereiche ( $> 7.500 \text{ cm}^{-1}$ ) treten auch in den Spektren für Bevacizumab auf und werden nicht für die Erstellung der NIRS-Methode berücksichtigt.

Für die Berechnung der optimalen PLS-Regression wurde der Bereich der ersten Oberschwingung der CH-Streckschwingung aliphatischer und aromatischer Kohlenwasserstoffe (6.300 – 5.500  $\text{cm}^{-1}$ ) und der Bereich diverser Kombinationschwingungen wie z. B. Carbonsäure-, Amin- und Kohlenwasserstoffverbindungen (ca. 4.600 – 4.200  $\text{cm}^{-1}$ ) herangezogen, da hier konzentrationsabhängige Intensitätsänderungen der Absorptionsbanden festzustellen sind.

Im Bereich der Absorptionsbande des Wassers (erste Oberschwingung der OH-Streckschwingung ca. 7.500 – 6.400  $\text{cm}^{-1}$ ) treten, bedingt durch die Abnahme des Wassergehalts im Vergleich zur Hintergrundmessung, negative Absorptionsbanden auf. Bei genauerer Betrachtung erkennt man, dass diese Banden keine idealen Wasserbanden darstellen, sondern teilweise in Breite und Höhe verschoben sind. Dieses Phänomen kann zum einen auf leichte Temperaturschwankungen während der Probenmessungen zurückgeführt werden, da diese über mehrere Wochen in den Monaten April und Mai in nicht klimatisierten Räumen durchgeführt worden sind. Laut

Conzen (2005: 27-30) steigen mit zunehmender Temperatur die Absorptionswerte der Wasserbande im Bereich  $> 7.000 \text{ cm}^{-1}$  und nehmen im Bereich  $< 7.000 \text{ cm}^{-1}$  ab. Des Weiteren absorbieren Verbindungen wie Carbonsäuren (erste Oberschwingung der CH-Streckschwingung bei  $6.900 \text{ cm}^{-1}$ ), Amine (erste Oberschwingung der NH-Streckschwingung bei  $7.000 - 6.500 \text{ cm}^{-1}$ ) oder aromatische Kohlenwasserstoffe (Kombinationsschwingungen bei  $7.300 - 6.900 \text{ cm}^{-1}$ ), wie sie auch in der Proteinstruktur des Antikörpermoleküls in großer Zahl auftreten, ebenso im Bereich des Wassers und beeinflussen somit die Absorptionsbande. Da auch hier eine Änderung der Signalintensität im Bezug zur Konzentration des Wirkstoffs zu beobachten ist und der Einfluss der Temperatur auf die Spektren die Variabilität im Proben-Set erhöht, wurde dieser Bereich bei der Erstellung der Methode ebenfalls mit einbezogen.

Nach der Kreuzvalidierung diverser Kombinationen von Spektralbereichen und Datenvorbehandlungen konnte das beste Ergebnis unter Verwendung der drei genannten Bereiche ( $7.454 - 5.570 \text{ cm}^{-1}$  und  $4.837 - 4.249 \text{ cm}^{-1}$ ) ohne weitere Manipulation der Spektren ermittelt werden (Abb. 35).

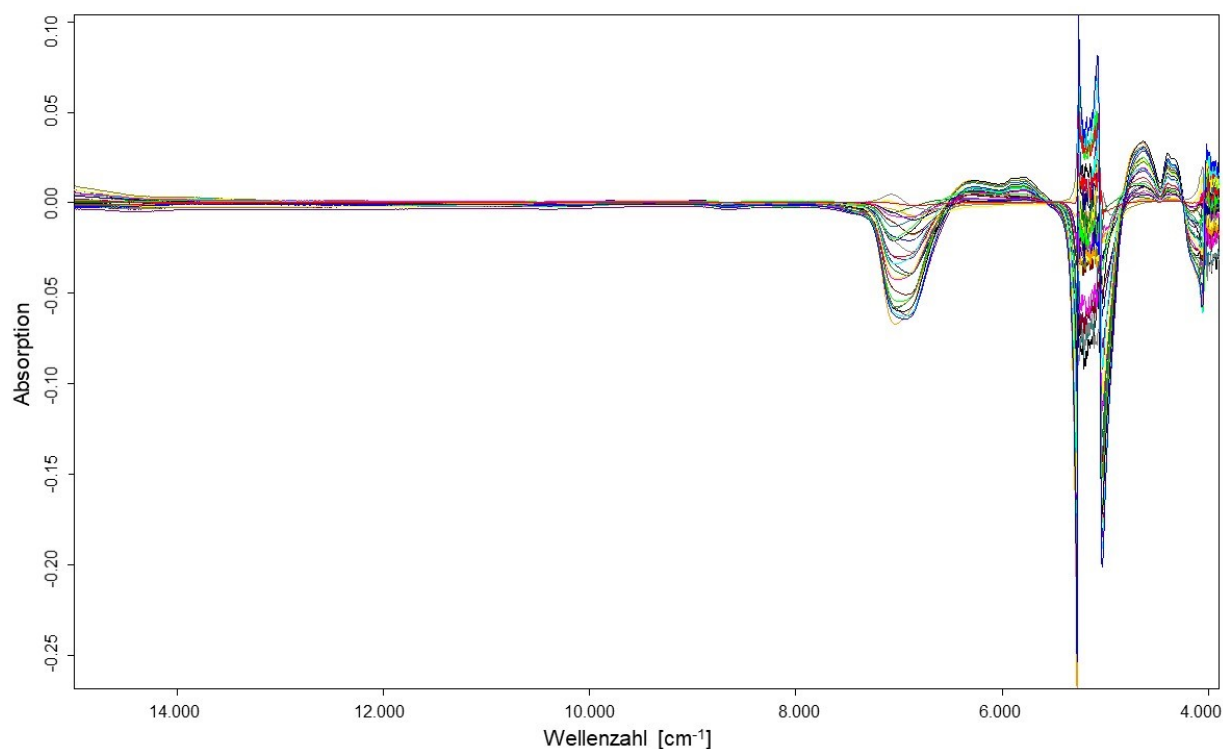


Abb. 34: Testspektren von Bevacizumab im Konzentrationsbereich 0,25 – 25,0 mg/ml (keine Datenvorbehandlung)

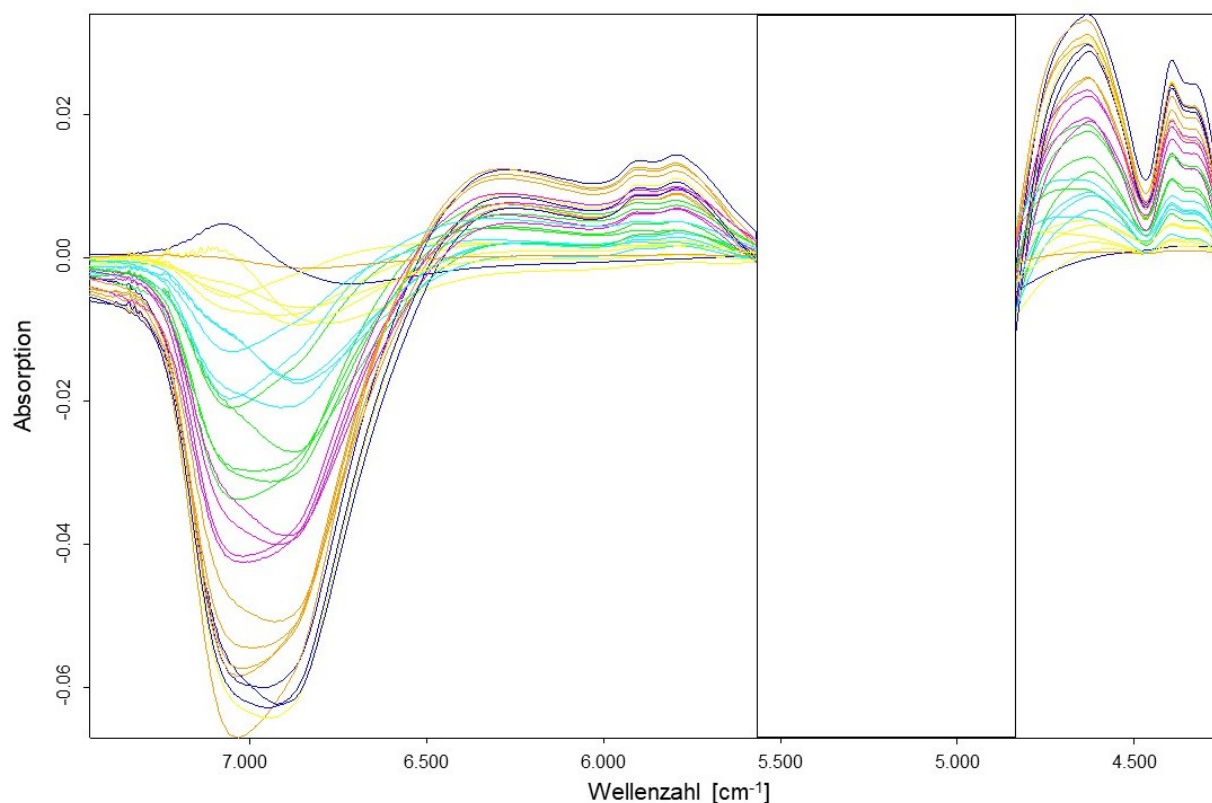


Abb. 35: Testspektren von Bevacizumab (0,25 – 25,0 mg/ml) ohne Datenvorbehandlung im Bereich 7.454 – 5.570  $\text{cm}^{-1}$  und 4.837 – 4.249  $\text{cm}^{-1}$

### 5.2.3.1 Beurteilung der Güte der Methode für Bevacizumab

Nachdem mittels Kreuzvalidierung die optimalen Methodenparameter bestimmt worden sind, wurde diese Methode anhand der Test-Set-Validierung überprüft. Dazu wurde jede fünfte Probe dem Test-Set zugewiesen (30 Proben im Test-Set und 120 Proben im Kalibrations-Set). In der nachfolgenden Tabelle 13 sind die wichtigsten Validierungsergebnisse zusammengefasst dargestellt. In den Vorhersage/Wahr-Plots sind die Referenzwerte (Wahr) gegen die aus der Kalibriergleichung berechneten Werten (Vorhersage) für die Proben des Kalibrierdatensets grafisch dargestellt (Anhang 35). Die mittlere Konzentration der Referenzwerte beträgt 11,42 mg/ml.

	Daten- vorbehandlung	Spektralbereich ( $\text{cm}^{-1}$ )	Konz.- Bereich (mg/ml)	Bias (mg/ml)	Faktor	$R^2$ (%)	RPD	RMSECV (mg/ml)
Kreuz- validierung	keine	7454 – 5570; 4837 – 4249	0,25 – 25,0	$7,87 \times 10^{-5}$	7	99,99	109	0,0727
	Daten- vorbehandlung	Spektralbereich ( $\text{cm}^{-1}$ )	Konz.- Bereich (mg/ml)	Bias (mg/ml)	Faktor	$R^2$ (%)	RPD	RMSEP (mg/ml)
Test-Set- Validierung	keine	7454 – 5570; 4837 – 4249	0,25 – 25,0	$4,32 \times 10^{-3}$	7	99,99	101	0,0840

Tab. 13: Kurzübersicht der Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung für Bevacizumab

## Ergebnisse und Diskussion

Für die Kreuzvalidierung wurde unter Verwendung von sieben PLS-Faktoren ein RMSECV von 0,0727 mg/ml (entspricht  $\pm 0,64$  % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwerte) bei einem Bias von  $7,87 \times 10^{-5}$  mg/ml und einem Bestimmungskoeffizienten von 99,99 % ermittelt.

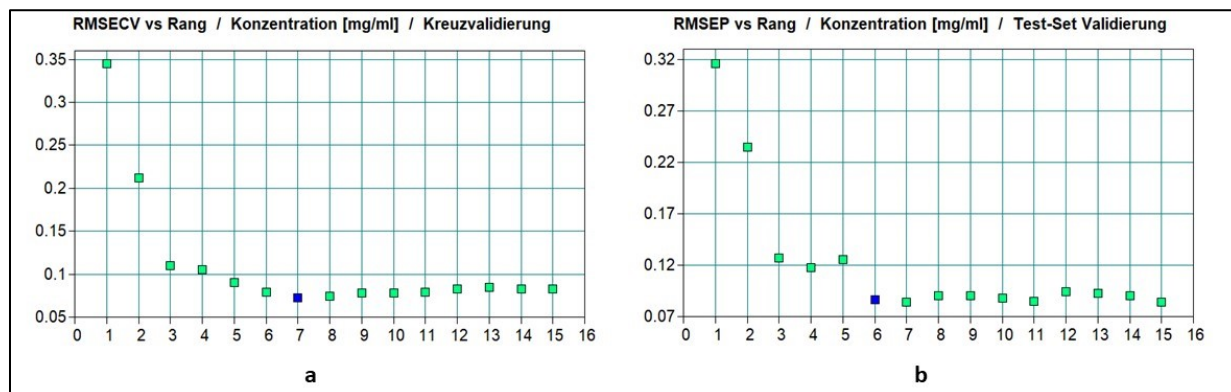


Abb. 36: RMSECV (a) und RMSEP (b) in mg/ml bezogen auf die Anzahl der verwendeten PLS-Faktoren für die Vorhersagemethode der Bevacizumab-Konzentrationswerte (blaue Markierung: von OPUS®-Software vorgeschlagener PLS-Faktor)

Für die Test-Set-Validierung hat die OPUS® Software die Verwendung von lediglich sechs Faktoren vorgeschlagen (Abb. 36). Bei der Kreuzvalidierung hat sich jedoch gezeigt, dass die Verwendung von sieben Faktoren sehr gute Ergebnisse liefert und die Methode keine unbrauchbaren Spektrendaten (kein „overfitting“) mit erfasst. Da für die Kreuzvalidierung ein größerer Datensatz als für die Test-Set-Validierung verwendet wird (150 Proben gegenüber 30 Proben) und somit die Aussagekraft größer ist, wurden für die Test-Set-Validierung ebenfalls sieben Faktoren verwendet. Dadurch konnte ein kleinerer RMSEP mit 0,084 mg/ml (entspricht  $\pm 0,74$  % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwerte) bei einem Bias von  $4,32 \times 10^{-3}$  mg/ml und einem Bestimmungskoeffizienten von 99,99 % erzielt werden, als bei der Verwendung von nur sechs Faktoren.

Die RPD-Werte entsprechen mit 109 für die Kreuz- und 101 für die Test-Set-Validierung den Anforderungen.

Von der Software als mögliche Ausreißer detektierte Proben wurden nicht aus dem Kalibrations-Set entfernt. Es konnten keine Fehler oder Probleme bei der Messung oder Erstellung der Proben festgestellt werden, weshalb davon ausgegangen werden

muss, dass die detektierten Abweichungen auf die Variabilität in den Proben zurückzuführen ist.

#### **5.2.3.2 Validierung der Methode für Bevacizumab**

Auch die NIRS-Methode für Bevacizumab wurde nach erfolgreicher interner Validierung auf ihre Leistungsfähigkeit überprüft. 70 unabhängige Proben, in einem Konzentrationsbereich von 0,5 bis 24,0 mg/ml, wurden gemessen und die Konzentrationswerte mittels NIRS-Methode vorhergesagt. Das erstellte Genauigkeitsprofil ist in Abbildung 37 dargestellt. Es zeigt, dass Proben mit einer Konzentration größer 3,5 mg/ml mit einer Wiederfindungsrate von nahezu 100 % bestimmt werden können, wobei diese eher unter- als überschätzt werden. Die Proben mit kleineren Konzentrationen werden dagegen eher überschätzt, können aber bis zu einer Bestimmungsgrenze von 1,3 mg/ml mit einer Sicherheit von 95 % innerhalb des Akzeptanzlimits von  $\pm 5$  % vorhergesagt werden.

Die ermittelten Werte für die Wiederholpräzision der Methode liegen im Bereich von 0,03 – 0,15 % und beweisen, dass die Methode bei wiederholter Messung Ergebnisse mit einer sehr geringen Streuung liefert.

Das Korrelationsdiagramm der externen Validierung (Abb. 38) zeigt, dass sich die von der NIRS-Methode vorhergesagten Messergebnisse über den gesamten Konzentrationsbereich proportional zu den tatsächlichen Probenkonzentrationen verhalten. Deutlich wird das anhand der idealen Regressionsgeraden mit einer Steigung von 0,9943 und einem Schnittpunkt mit der Abszisse bei 0,0026 sowie einem Korrelationskoeffizienten von  $R^2 = 0,99$ .

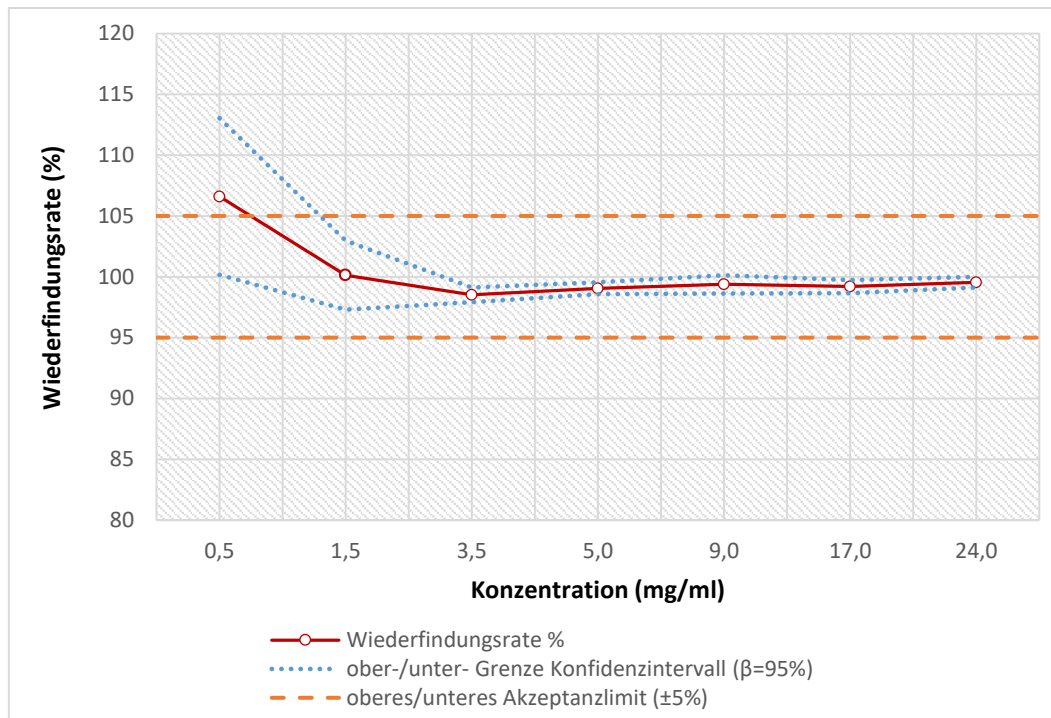


Abb. 37: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Bevacizumab

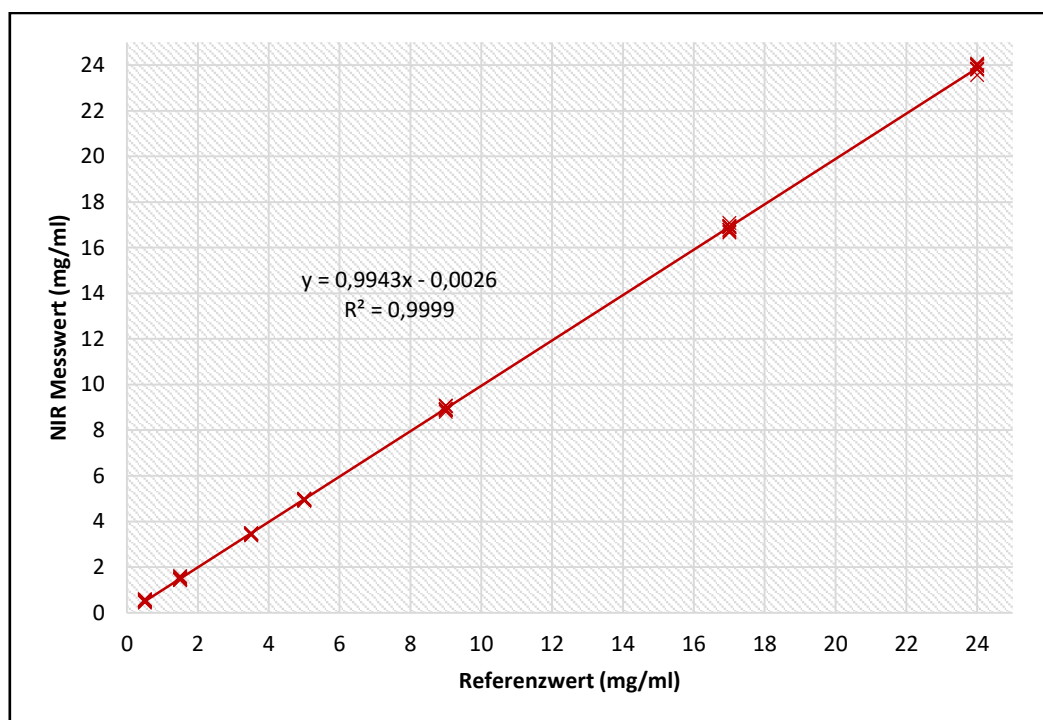


Abb. 38: Korrelationsdiagramm zwischen den Referenzwerten und den gemessenen Werten für die NIRS-Methode für Bevacizumab

Auch die Robustheit der Bevacizumab-Methode ist durch die größtmögliche Variabilität in den Kalibrationsproben sichergestellt. Für die Spezifität gelten die gleichen Annahmen wie für die bereits zuvor beschriebenen Methoden.

#### **5.2.4 NIRS-Methode zur Quantifizierung von Cetuximab in NaCl 0,9 %**

Die NIRS-Methode für Cetuximab wurde ebenfalls auf Grundlage von 150 Spektren über einen Konzentrationsbereich von 0,05 – 5,0 mg/ml erstellt. Die erhaltenen Spektren sind in Abbildung 37 dargestellt (30 Testspektren ohne Datenvorbehandlung). Vor der Messung der Proben wurde eine Küvette, gefüllt mit Trägerlösung, als Hintergrundspektrum aufgenommen.

Wie bei den bereits beschriebenen Wirkstoffen, treten, bedingt durch die wässrige Grundlage und die geringe optische Schichtdicke, auch bei den Cetuximab-Spektren sehr starke Absorptionen (ca.  $5.400 - 4.900 \text{ cm}^{-1}$  und  $< 4.000 \text{ cm}^{-1}$ ) auf. Auch der bandenfreie Spektralbereich ( $> 7.500 \text{ cm}^{-1}$ ), bedingt durch die verwendete Quarzglasküvette, ist deutlich sichtbar. Daher können diese Bereiche nicht für die Methodenerstellung verwendet werden.

Da es sich beim Cetuximab, wie auch beim Bevacizumab, um ein großes Proteinmolekül (Immunglobulin) handelt, ist eine Ähnlichkeit der Spektren zu erwarten. Betrachtet man die erhaltenen Spektren beider Wirkstoffe (Abb. 34 und Abb. 39) bestätigt sich diese Erwartung. Die Spektren von Cetuximab weisen Absorptionsbanden in den gleichen Spektralbereichen auf wie die Spektren von Bevacizumab, jedoch mit einer geringeren Intensität aufgrund der 5-fach kleineren Konzentration des FAM (5 mg/ml bei Cetuximab im Vergleich zu 25 mg/ml bei Bevacizumab). Auch die Verschiebung der Wasserbande (ca.  $7.500 - 6.400 \text{ cm}^{-1}$ ) in Breite und Höhe ist bei den Cetuximab-Spektren zu erkennen, da diese in dem gleichen Zeitraum wie die Bevacizumab-Spektren gemessen wurden. Eine optische Unterscheidung der Spektren ist anhand der Absorptionsbande im Bereich der Kombinationsschwingungen (ca.  $4.600 - 4.200 \text{ cm}^{-1}$ ) möglich. Die Absorptionsbande des Cetuximab weist in diesem Bereich zwei verhältnismäßig gut voneinander getrennte Einzelbanden auf (bei  $4.440 \text{ cm}^{-1}$  und  $4.330 \text{ cm}^{-1}$ ). Bei dem Spektrum des Bevacizumab überlagern sich die beiden Spitzen stärker und bilden daher eine Bande mit einem breiten Plateau.

## Ergebnisse und Diskussion

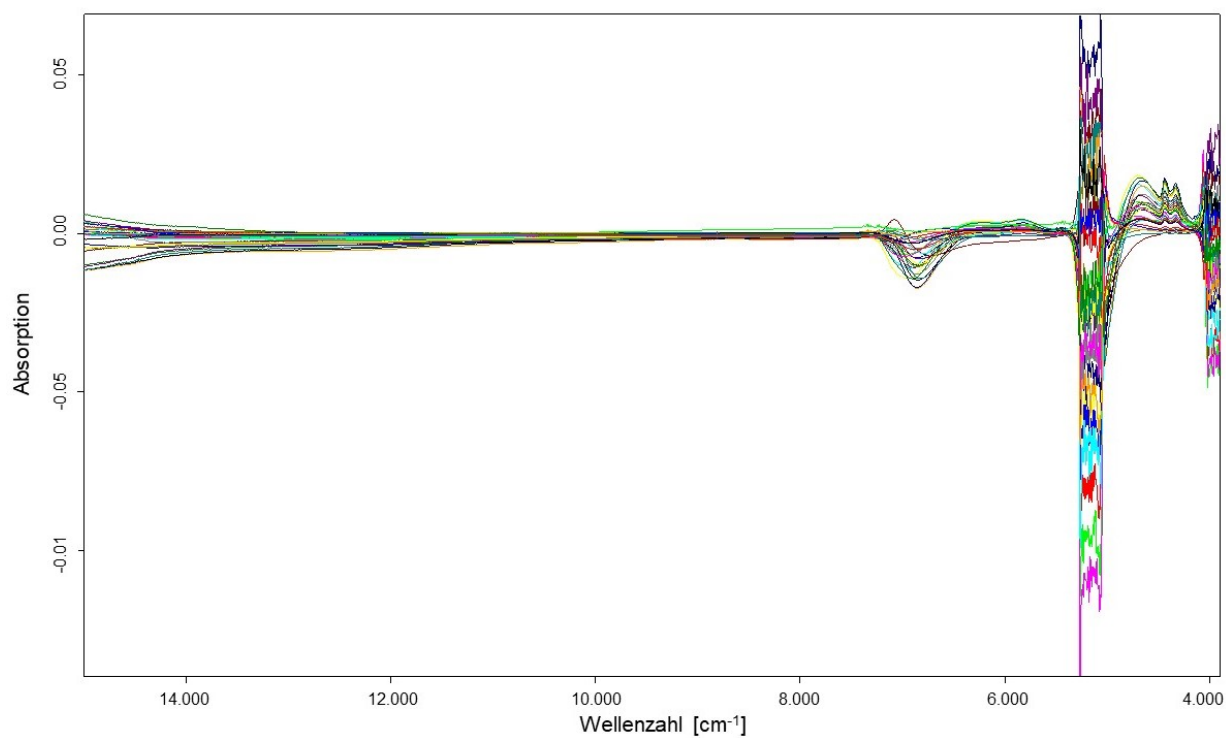


Abb. 39: Testspektren von Cetuximab im Konzentrationsbereich 0,2 – 5,0 mg/ml (keine Datenvorbehandlung)

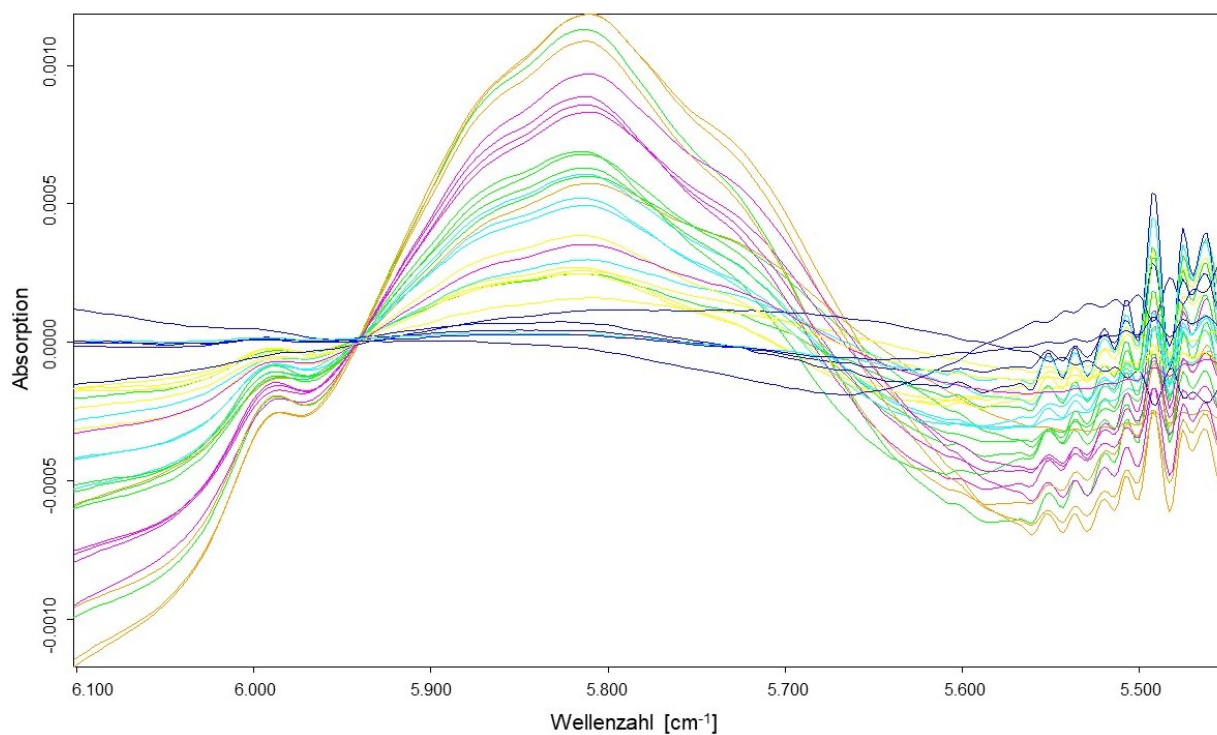


Abb. 40: Testspektren von Cetuximab (0,2 – 5,0 mg/ml) nach Subtraktion einer Geraden im Bereich 6.102 – 5.450  $\text{cm}^{-1}$



Aufgrund der Ähnlichkeit der Spektren wurden für die Erstellung der NIRS-Methode für Cetuximab die gleichen Spektralbereiche verwendet wie für Bevacizumab. Das beste Ergebnis mit einem RMSECV von 0,0235 mg/ml für die Kreuzvalidierung wurde für die Wellenzahlen von 6.102 bis 5.450  $\text{cm}^{-1}$  nach der Subtraktion einer Geraden (Abb. 40) zur Korrektur einer leichten Basislinienverschiebung erzielt. Das minimale Signalrauschen ab ca. 5.560  $\text{cm}^{-1}$  ist auf die an diesen Bereich angrenzende sehr starke Absorption der Wasserbande zurückzuführen.

#### 5.2.4.1 Beurteilung der Güte der Methode für Cetuximab

Mittels Test-Set-Validierung wurde die Güte der Methode geprüft (30 Proben im Test-Set und 120 Proben im Kalibrations-Set). In Tabelle 14 sind die wichtigsten Validierungsergebnisse dargestellt. In den Vorhersage/Wahr-Plots sind die Referenzwerte (Wahr) gegen die aus der Kalibriergleichung berechneten Werten (Vorhersage) für die Proben des Kalibrierdatensets grafisch dargestellt (Anhang 35). Die mittlere Konzentration der Referenzwerte beträgt 2,4 mg/ml.

	Daten- vorbehandlung	Spektralbereich ( $\text{cm}^{-1}$ )	Konz.- Bereich (mg/ml)	Bias (mg/ml)	Faktor	$R^2$ (%)	RPD	RMSECV (mg/ml)
Kreuz- validierung	Subtraktion einer Geraden	6102 – 5450	0,05 – 5,0	$2,22 \times 10^{-5}$	5	99,98	64,2	0,0235
	Daten- vorbehandlung	Spektralbereich ( $\text{cm}^{-1}$ )	Konz.- Bereich (mg/ml)	Bias (mg/ml)	Faktor	$R^2$ (%)	RPD	RMSEP (mg/ml)
Test-Set- Validierung	Subtraktion einer Geraden	6102 – 5450	0,2 – 5,0	$-1,26 \times 10^{-3}$	5	99,98	71,6	0,0216

Tab. 14: Kurzübersicht der Ergebnisse der Kreuz- und Test-Set-Validierung für Cetuximab

Die OPUS® Software empfiehlt für die Kreuzvalidierung die Verwendung von sechs Faktoren (siehe Abb. 41), jedoch konnten bereits mit fünf Faktoren sehr gute Ergebnisse erzielt werden und die Hinzunahme eines weiteren Faktors bewirkt keine signifikante Verbesserung (RMSECV lediglich um 0,0015 mg/ml und RMSEP um 0,0003 mg/ml verringert). Die erstellte Methode zeichnet sich durch einen Bestimmungskoeffizienten von 99,98 % sowohl für die Kreuz- als auch für die Test-Set-Validierung aus. Auch der Bias mit  $2,22 \times 10^{-5}$  mg/ml und  $-1,26 \times 10^{-3}$  mg/ml sowie der RPD mit 64,2 und 71,6 für die Kreuz- bzw. Test-Set-Validierung weisen eine zuverlässige und stabile Methode nach. Mit einem RMSECV von 0,0235 mg/ml (entspricht  $\pm 0,98$  % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwerte) und einem

## Ergebnisse und Diskussion

RMSEP von 0,0216 mg/ml (entspricht  $\pm 0,9$  % Abweichung vom Mittelwert der Referenzwerte) erfüllt die Methode die Anforderung an eine maximale prozentuale Abweichung von  $\pm 5$  % vom Mittelwert der Referenzwertkonzentrationen.

Auch bei der Messung und Erstellung der Cetuximab-Proben ist es zu keinen Abweichungen gekommen, weshalb zum Erhalt der Variabilität in den Proben keine möglichen Ausreißer entfernt wurden.

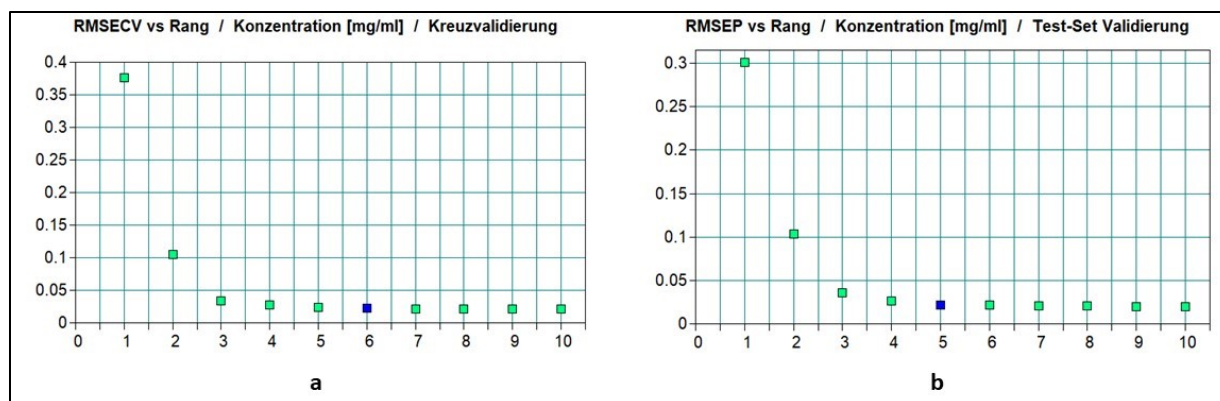


Abb. 41: RMSECV (a) und RMSEP (b) in mg/ml bezogen auf die Anzahl der verwendeten PLS-Faktoren für die Vorhersagemethode der Cetuximab-Konzentrationswerte (blaue Markierung: von OPUS®-Software vorgeschlagener PLS-Faktor)

### 5.2.4.2 Validierung der Methode für Cetuximab

Die externe Validierung zum Nachweis der Leistungsfähigkeit wurde mittels 70 unabhängigen Validierproben über einen Konzentrationsbereich von 0,2 mg/ml bis 4,9 mg/ml durchgeführt. Das erstellte Genauigkeitsprofil ist in Abbildung 42 dargestellt und veranschaulicht, dass die erstellte NIRS-Methode für Cetuximab unbekannte Proben mit einer Konzentration  $\geq 1,2$  mg/ml mit einer Wiederfindungsrate von nahezu 100 % vorhersagt. Proben mit einer Konzentration kleiner als 1,2 mg/ml werden von der Methode eher unterschätzt, können aber bis zum grafisch ermittelten LLOQ von 0,61 mg/ml mit einer Sicherheit von 95 % innerhalb des Akzeptanzlimits von  $\pm 5$  % vorhergesagt werden.

Die Wiederholpräzision der Methode ist durch einen maximalen Wert von 0,02 % über den gesamten Konzentrationsbereich gekennzeichnet. Die Steigung der Regressionsgeraden des Korrelationsdiagramms zwischen Referenz- und den gemessenen Werten von 0,9933 sowie dem Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse bei 0,0068 weist die Linearität der Methode nach (Abb. 43). Dass sich die

## Ergebnisse und Diskussion

mit der NIRS-Methode gemessenen Werte proportional zu den Referenzwerten verhalten, verdeutlicht der Korrelationskoeffizient von  $R^2 = 0,9999$ . Für Robustheit und Spezifität der Cetuximab-Methode gelten gleichermaßen die Annahmen wie für die Methoden der bereits beschriebenen Wirkstoffe.

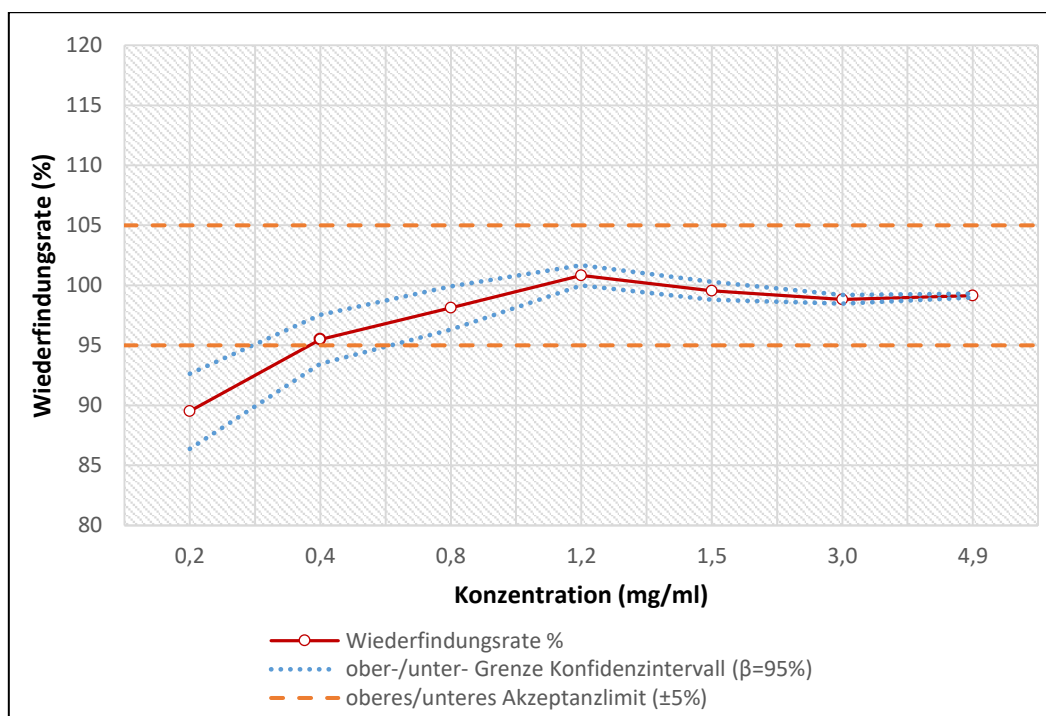


Abb. 42: Genauigkeitsprofil der NIRS-Methode für Cetuximab

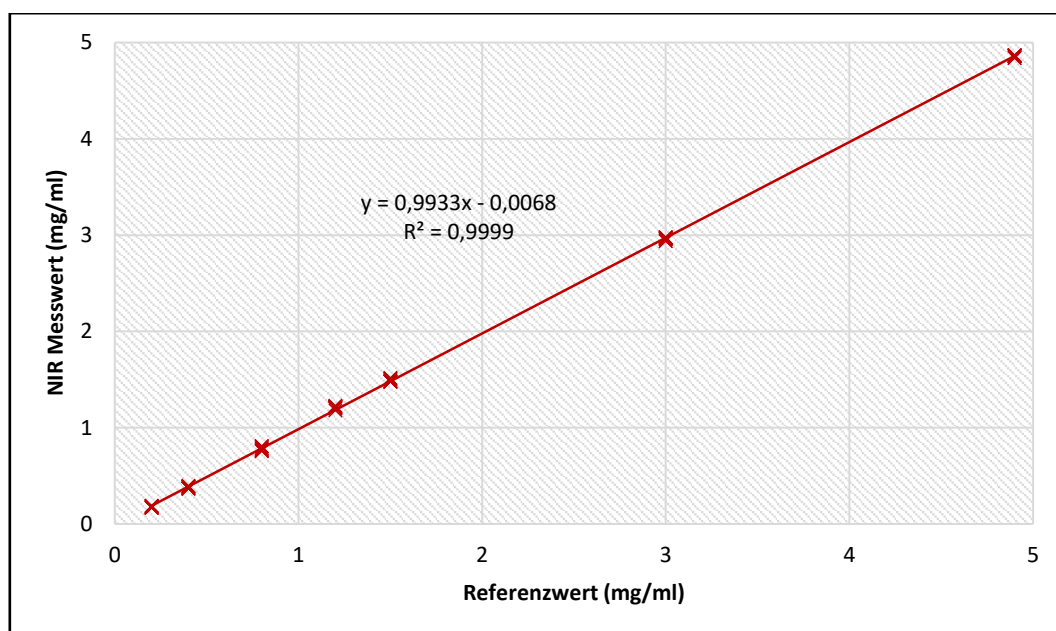


Abb. 43: Korrelationsdiagramm zwischen den Referenzwerten und den gemessenen Werten für die NIRS-Methode für Cetuximab

### **5.3 Zusammenfassung und Beurteilung der Kalibrierungs- und Validierungsergebnisse**

Die erhaltenen Absorptionssignale der gemessenen Spektren weisen insgesamt eine verhältnismäßig schwache Intensität auf, was durch die geringe optische Schichtdicke der Proben von 1 mm zu erklären ist. Jedoch konnten dadurch der starke Einfluss des Wassers auf die Spektren reduziert werden und mit Hilfe der PLS-Regression und der Auswahl geeigneter Spektrenabschnitte NIRS-Methoden mit ausreichender Güte erstellt werden.

Für die gute Qualität der gemessenen Spektren spricht, dass entweder keine Datenvorbehandlung oder nur die Korrektur einer Basislinienverschiebung notwendig war und keine weitere Manipulation der Spektrendaten vorgenommen werden musste.

Die errechneten mittleren quadratischen Fehler (RMSECV und RMSEP) weisen, bezogen auf die mittlere Konzentration der Referenzwerte, für alle vier Methoden Abweichungen kleiner  $\pm 1$  % auf und erfüllen somit die Vorgaben von maximal  $\pm 5$  %. Auch alle weiteren Validierungsergebnisse zeigen, dass die erstellten Methoden sehr gut zur quantitativen Analyse der vier untersuchten Wirkstoffe geeignet sind.

Die ermittelten Bestimmungsgrenzen liegen für alle vier Wirkstoffe jeweils unterhalb einer Wirkstoffkonzentration von 1 %. Um jedoch die Eignung der Methoden bzw. der von ihnen bestimmten Konzentrationswerte als freigaberelevanten Parameter bei der Endproduktprüfung durch den Apotheker in der Routine beurteilen zu können, müssen die tatsächlichen Konzentrationsbereiche der hergestellten Zubereitungen in der Klinik-Apotheke des UKD betrachtet werden. Dazu wurden retrospektiv von allen hergestellten Zubereitungen der vier untersuchten Wirkstoffe für die Jahre 2010 bis 2016 anhand der Herstellungsdocumentation die Wirkstoffkonzentrationen ermittelt. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 44 – 47 grafisch als Häufigkeitsverteilung dargestellt.

Mit dem Wirkstoff Gemcitabin sind insgesamt 8.229 Zubereitungen hergestellt worden. Die mittlere Konzentration betrug 5,18 mg/ml und der Konzentrationsbereich erstreckte sich von 1,11 mg/ml bis maximal 8,21 mg/ml. Die ermittelte Bestimmungsgrenze der NIRS-Methode beträgt 3,22 mg/ml. Das bedeutet, dass 7.576 Zubereitungen (entspricht 92,07 %) eine Konzentration oberhalb des LLOQ

## Ergebnisse und Diskussion

der entwickelten Methode aufwiesen und 653 Zubereitungen (entspricht 7,93 %) unterhalb des LLOQ nicht mit ausreichenden Genauigkeit bestimmt hätten werden können.

Die mittlere Konzentration der betrachteten Carboplatin-Zubereitungen beträgt 1,04 mg/ml bei einer Maximalkonzentration von 6,22 mg/ml und einer Minimalkonzentration von 0,02 mg/ml. Da die Bestimmungsgrenze der NIRS-Methode bei 1,45 mg/ml liegt, hätten lediglich 1.109 (entspricht 16,64 %) der insgesamt 6.873 Zubereitungen mit einer ausreichenden Genauigkeit vorhergesagt werden können. Für 5.764 Zubereitungen (entspricht 83,86 %) hätte die Methode nicht angewendet werden können.

Von den 6.736 Bevacizumab-Zubereitungen wiesen lediglich sechs Zubereitungen (entspricht 0,09 %) eine Konzentration unterhalb des LLOQ von 1,3 mg/ml auf. Die geringste Konzentration betrug 0,59 mg/ml und die höchste 10,18 mg/ml bei einem Mittelwert von 4,69 mg/ml. Bei den 6.262 Zubereitungen mit dem Wirkstoff Cetuximab waren es sogar nur drei Zubereitungen (entspricht 0,05 %), die eine Konzentration unterhalb der ermittelten Bestimmungsgrenze von 0,61 mg/ml aufwiesen. Die Zubereitungen erstreckten sich über einen Konzentrationsbereich von 0,32 – 2,90 mg/ml bei einer mittleren Konzentration von 1,32 mg/ml.

Um künftig die Anwendung der NIRS-Methode für alle hergestellten Zubereitungen sicherzustellen, muss eine Anpassung des Herstellungsprozesses erfolgen. Konkret müsste in den internen Herstellungsanweisungen eine minimale Endkonzentration bezogen auf die jeweils ermittelte Bestimmungsgrenze für jeden der vier Wirkstoffe festgelegt werden. Somit wären alle vier entwickelten NIRS-Methoden in der Routine zur Bestimmung eines qualitätsrelevanten Freigabeparameters einsetzbar.

## Ergebnisse und Diskussion

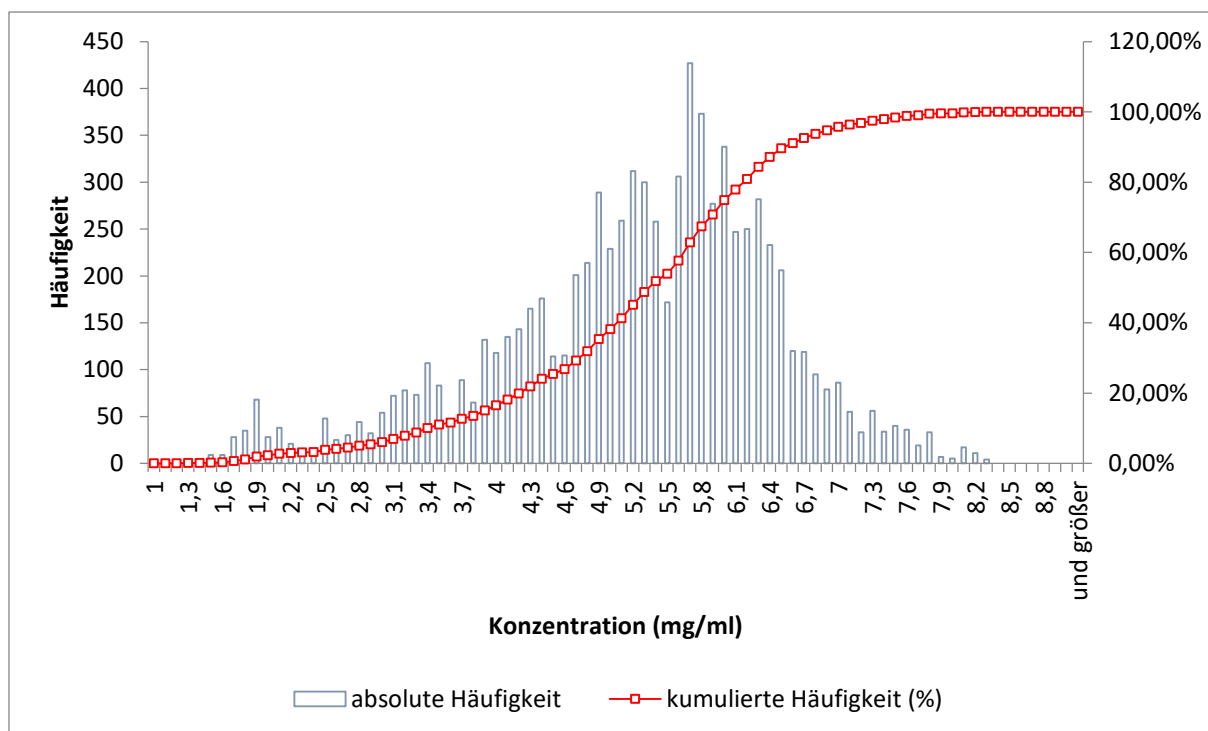


Abb. 44: Häufigkeitsverteilung der Konzentration von Gemcitabin in 8.229 hergestellten Zubereitungen am UKD (2010 – 2016)

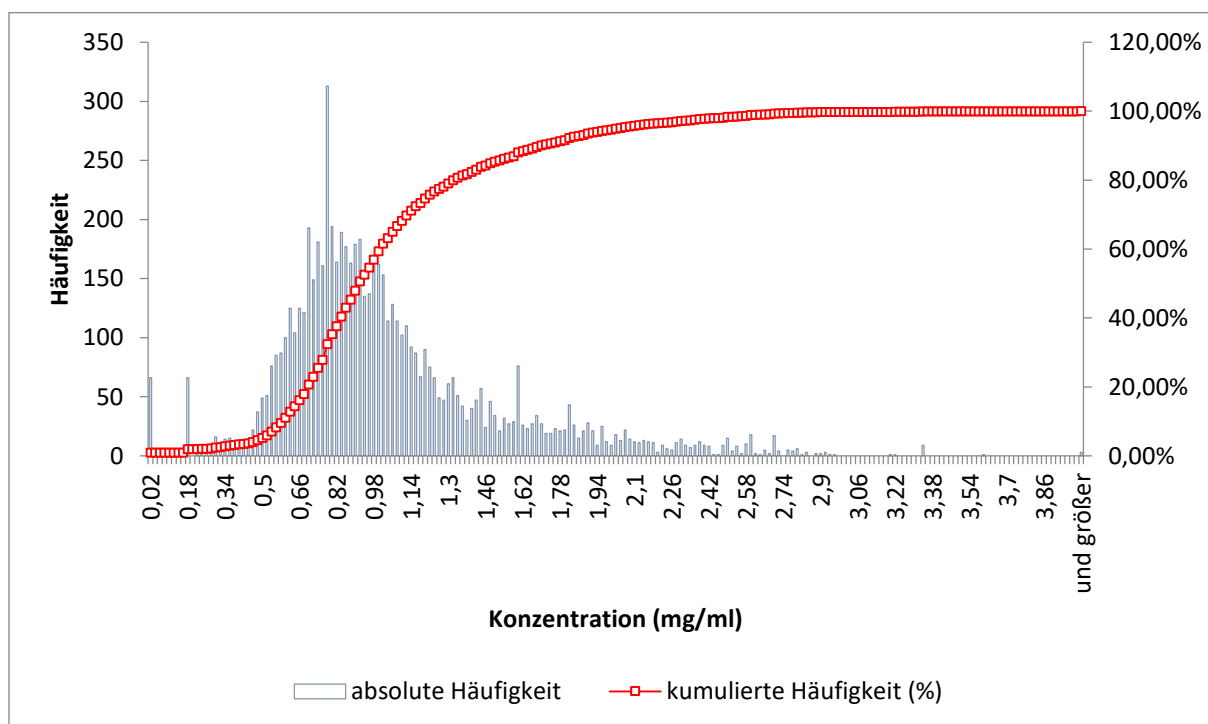


Abb. 45: Häufigkeitsverteilung der Konzentration von Carboplatin in 6.875 hergestellten Zubereitungen am UKD (2010 – 2016)

## Ergebnisse und Diskussion

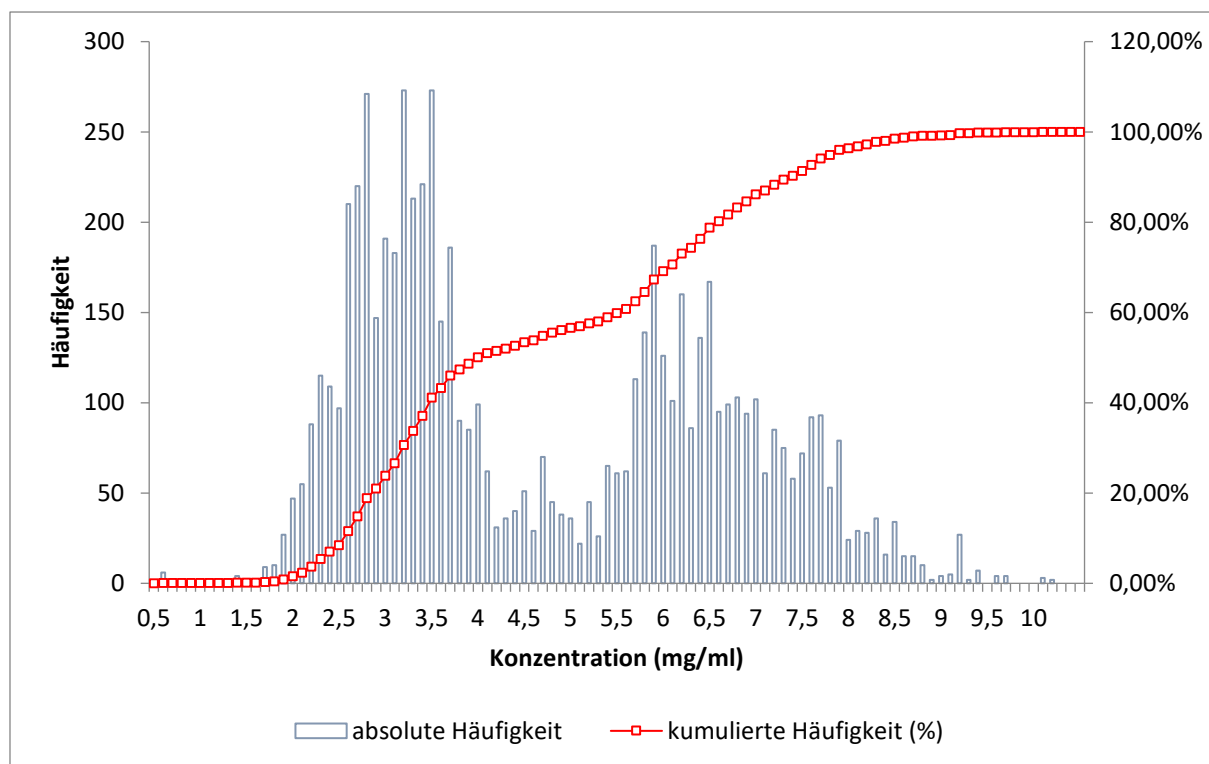


Abb. 46: Häufigkeitsverteilung der Konzentration von Bevacizumab in 6.736 hergestellten Zubereitungen am UKD (2010 – 2016)

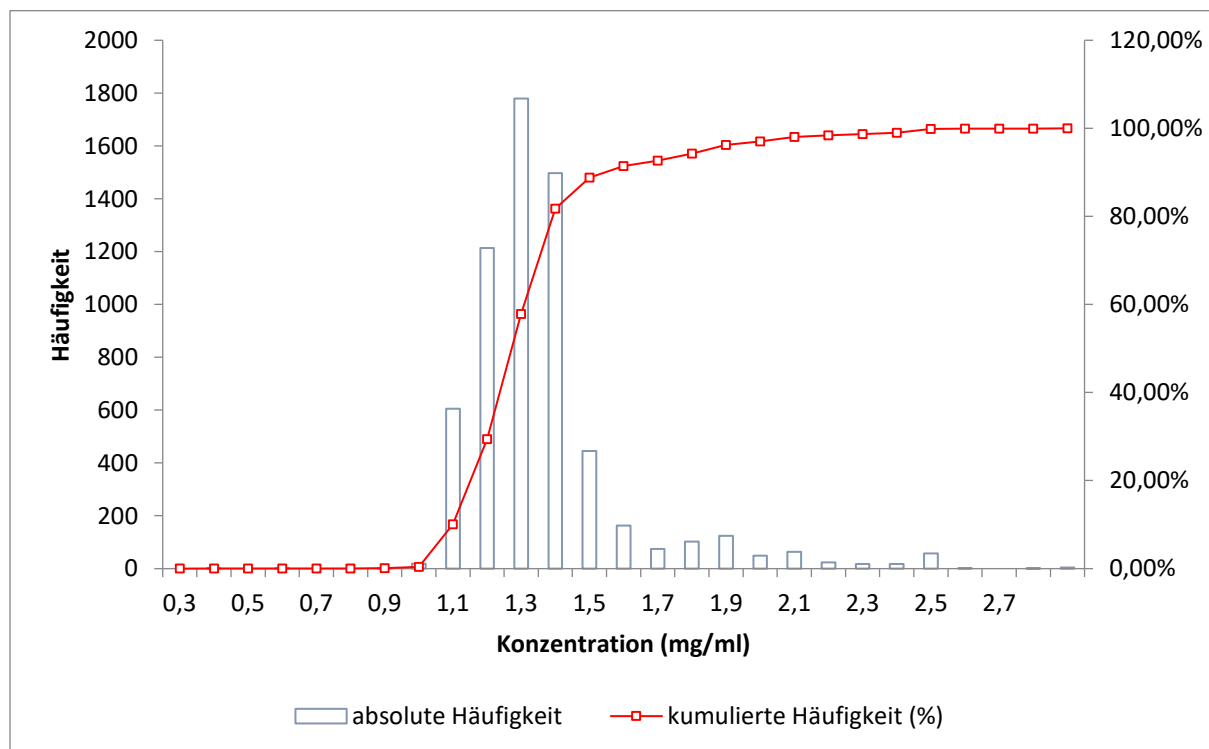


Abb. 47: Häufigkeitsverteilung der Konzentration von Cetuximab in 6.262 hergestellten Zubereitungen am UKD (2010 – 2016)

#### 5.4 Testmessungen mit der entwickelten Infusionsbeutel-Messvorrichtung

Um zu überprüfen, ob mit der entwickelten Infusionsbeutel-Messvorrichtung reproduzierbare Messungen möglich sind, wurde ein 100 ml Glucose 5 % Infusionsbeutel 10-mal in die Vorrichtung eingespannt und vermessen. Die erhaltenen Spektren sind in Abbildung 48 dargestellt. Die Banden zwischen ca.  $7.500 - 6.450 \text{ cm}^{-1}$  und  $5.400 - 4.900 \text{ cm}^{-1}$  resultieren aus der Absorption des Wassers und der OH-Gruppen der Glucose. Da der Infusionsbeutel aus Polyolefin besteht, einem Kettenpolymer aus verschiedenen Alkenen, treten Absorptionsbanden der CH-Kombinationsschwingungen zwischen ca.  $4.000 - 4.400 \text{ cm}^{-1}$  und der ersten Oberschwingung der CH-Streckschwingung zwischen  $5.900 - 5.500 \text{ cm}^{-1}$  der aliphatischen Kohlenwasserstoffe auf. Weiterhin ist eine Verschiebung der Basislinie, bedingt durch die starken Streueffekte des Beutelmaterials, zu erkennen. Die erhaltenen Absorptionsbanden unterscheiden sich jedoch sehr stark in ihrer Intensität, obwohl alle gemessenen Spektren die gleiche Probe darstellen. Daran wird deutlich, dass mit der entwickelten Messvorrichtung keine Messungen mit reproduzierbarer Schichtdicke durchgeführt werden können und die Vorrichtung die an sie gestellten Anforderung nicht erfüllen kann.

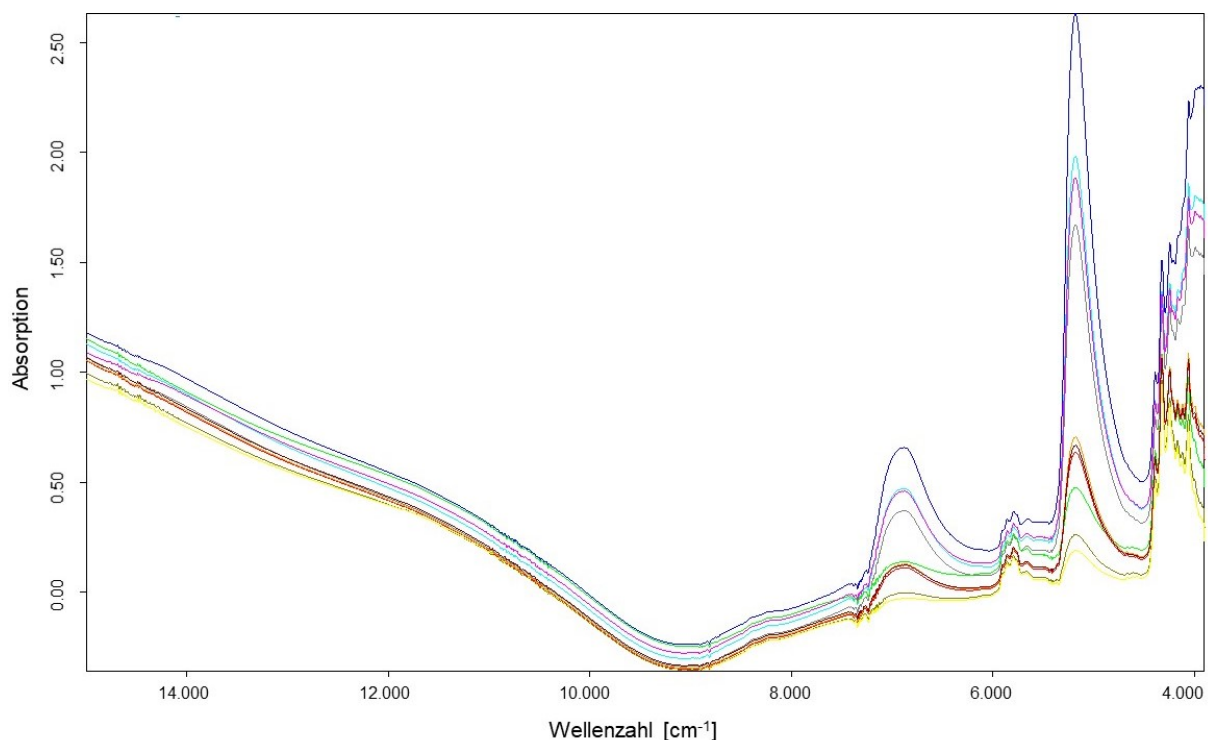


Abb. 48: Spektren eines Freeflex-Infusionsbeutels (Glucose 5 %) nach mehrmaligem Einspannen in die Infusionsbeutel-Messvorrichtung, gemessen mit dem Bruker Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer



## Ergebnisse und Diskussion

Sie wurde jedoch genutzt, um Testmessungen zur Beurteilung des Einflusses des Beutelmaterials auf die Spektren durchzuführen. Dazu wurden für jeden der vier untersuchten Wirkstoffe je 30 Proben gemessen. Eine konstante Schichtdicke wurde durch Verwendung der Quarzglasküvette sichergestellt und zusätzlich ein Ausschnitt des Infusionsbeutelmaterials in den Strahlengang eingebracht.

Abbildung 49 zeigt die Spektren der FAM der vier Wirkstoffe. Es ist deutlich zu erkennen, dass durch die Subtraktion des Hintergrundspektrums keine Absorptionsbanden der Polyolfine in den Spektren zu erkennen sind. Die Ergebnisse der chemometrischen Datenauswertung sind in Tabelle 15 im direkten Vergleich zu den Ergebnissen der Methodenentwicklungen dargestellt.

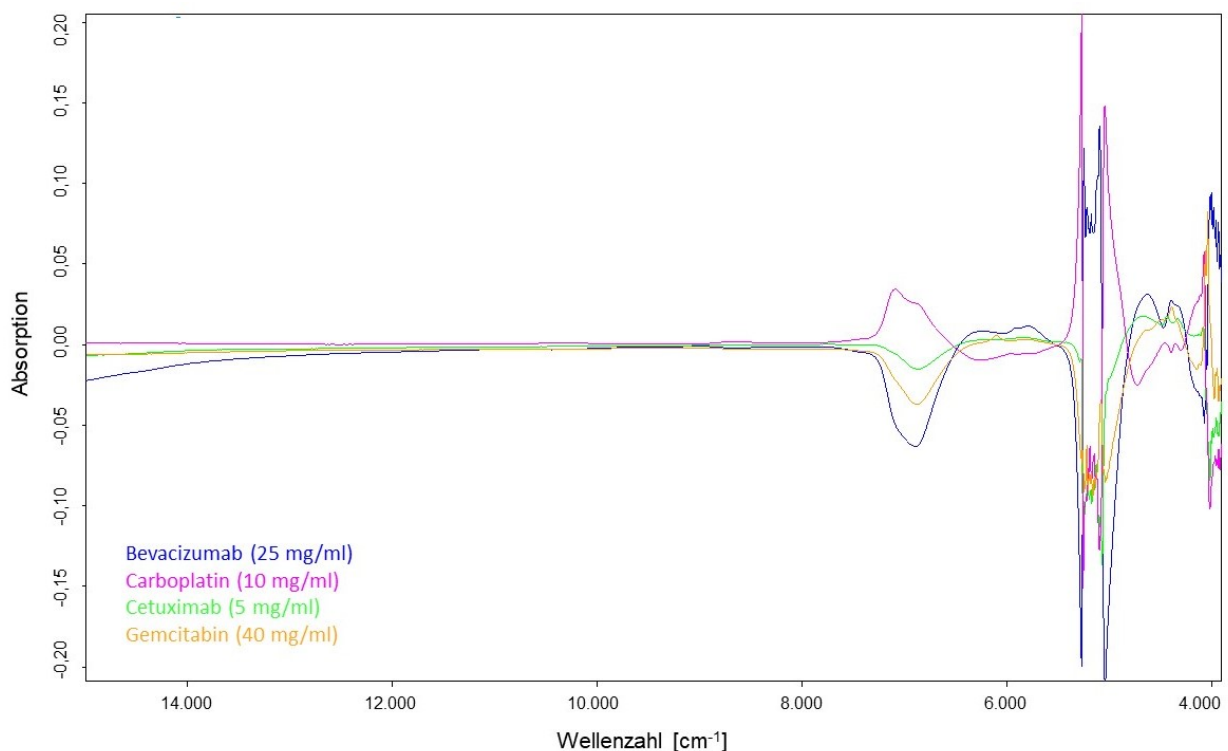


Abb. 49: NIR-Spektren der FAM (nach Subtraktion des Hintergrundspektrums), gemessen durch Polyolefin-Folie mit dem Bruker Vertex FT-NIR-Spektrometer

Wirkstoff	Ergebnisse: Testmessungen durch Beutelmateriale				Ergebnisse: Methodenentwicklung			
	RMSECV (mg/ml)	Faktor	R <sup>2</sup> (%)	Bias (mg/ml)	RMSECV (mg/ml)	Faktor	R <sup>2</sup> (%)	Bias (mg/ml)
Gemcitabin	0,0469	3	100	$3,32 \times 10^{-4}$	0,0947	5	99,99	$7,30 \times 10^{-5}$
Carboplatin	0,0157	4	100	$-6,68 \times 10^{-4}$	0,0335	8	99,99	$5,36 \times 10^{-4}$
Bevacizumab	0,0818	4	99,98	$-9,90 \times 10^{-5}$	0,0727	7	99,99	$7,87 \times 10^{-5}$
Cetuximab	0,0163	4	99,98	$-2,86 \times 10^{-4}$	0,0235	5	99,98	$2,22 \times 10^{-5}$

Tab. 15: Vergleich der Ergebnisse von Testmessungen durch Infusionsbeutelmaterial und Ergebnisse der Methodenentwicklung

Aufgrund der geringen Differenzen der Qualitätsparameter kann davon ausgegangen werden, dass das Material des Infusionsbeutels zu keiner nennenswerten Beeinträchtigung der quantitativen Analyse führt. Durch Subtraktion des Hintergrundspektrums konnten die Absorptionsbanden der Polyolefine aus den Probenspektren abgezogen werden und haben damit nur einen geringen Einfluss bei der Kreuzvalidierung. Die kleineren Werte des RMSECV für die Testmessungen durch das Beutelmateriale sind auf die geringere Anzahl an Proben und damit der geringeren Variabilität im Proben-Set, im Vergleich zu den Ergebnissen der Methodenentwicklungen, zurückzuführen.

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

Nicht erst seit den Enthüllungen um die gestreckten Zytostatikazubereitungen eines deutschen Apothekers Ende 2017 (Schlingensiepen 2017) besteht der Bedarf einer qualitätssichernden Untersuchung für in Apotheken patientenindividuell hergestellte Zytostatikazubereitungen. Die bisherige Anwendung des 4-Augen-Prinzips als qualitätssichernden Herstellungsschritt ist nicht nur einfach zu manipulieren, sondern auch fehleranfällig sowie kosten- und zeitintensiv. Ein geeignetes analytisches Verfahren, welches im Anschluss an die Herstellung Aufschluss über die quantitative Zusammensetzung der hergestellten Zubereitungen gibt, steht bisher nicht zur Verfügung. Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher mittels chemometrischer Verfahren NIRS-Methoden zur quantitativen Analyse von in der Klinik-Apotheke des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus Dresden patientenindividuell hergestellten Zytostatikazubereitungen entwickelt und durch Validierung deren Eignung und Bestimmungsgrenze nachgewiesen.

Da in der Onkologie derzeit mehr als hundert verschiedene Wirkstoffe zum Einsatz kommen, deren Betrachtung den Rahmen dieser Arbeit überstiegen hätte, wurde zu Beginn eine Vorauswahl von zehn Wirkstoffen getroffen und diese sowohl mit einem Scanning-Grating-NIR-Spektrometer als auch einem FT-NIR-Spektrometer untersucht. Anhand der Ergebnisse wurden anschließend für die Erstellung der NIRS-Methoden die Wirkstoffe Gemcitabin, Carboplatin, Bevacizumab und Cetuximab sowie für die Messungen das FT-NIR-Spektrometer ausgewählt. Je Wirkstoff wurden im Labor aus den in der Routine verwendeten FAM 150 Proben hergestellt und bei einer optischen Schichtdicke von 1 mm in einem Messbereich von  $3.900\text{ cm}^{-1}$  bis  $15.000\text{ cm}^{-1}$  gemessen.

Die erhaltenen Transmissionsspektren weisen, bedingt durch die wasserhaltige Matrix, Signale und Einflüsse des Wassers auf. So treten in allen Spektren sehr starke Absorption zwischen ca.  $5.400 - 4.900\text{ cm}^{-1}$  auf. Verursacht durch das Siliziumdioxid der Quarzglasküvette tritt auch bei Wellenzahlen kleiner  $4.000\text{ cm}^{-1}$  eine starke Absorption in allen Spektren auf. Bei Wellenzahlen größer  $7.500\text{ cm}^{-1}$  (intensitätsarme Absorptionsbanden der dritten Oberschwingungen) sind bei allen Spektren keine Absorptionssignale mehr erkennbar, was auf die verhältnismäßig geringen Konzentrationen der Proben und die geringe Schichtdicke von 1 mm

zurückzuführen ist. Die übrigen Wellenlängenbereiche der Spektren weisen zum Teil konzentrationsabhängige Absorptionsbanden der Wirk- und Hilfsstoffe auf und wurden mit den zugehörigen Referenzwerten zur Erstellung der Kalibrierfunktionen durch PLS-Regression herangezogen. Diese wurden anschließend mittels Kreuz- und Test-Set-Validierung überprüft. Zur Beurteilung der Güte der erstellten Regressionsmodelle wurden die erhaltenen Qualitätsparameter RMSECV bzw. RMSEP, Bias, RPD, Faktorenanzahl und  $R^2$  betrachtet. Alle vier entwickelten NIRS-Methoden konnten mit mittleren Analysefehlern innerhalb der zuvor festgelegten maximalen Abweichung von  $\pm 5$  %, einem Bias  $\geq 0,0137$  mg/ml, einem RPD  $\geq 64,2$ , einem  $R^2$  99,98 % sowie einer jeweils optimalen Anzahl an Faktoren überzeugen.

Durch die anschließend durchgeführten externen Methodenvvalidierungen mit jeweils 70 unabhängigen Proben konnte der dokumentierte Nachweis der Zuverlässigkeit und Leistungsfähigkeit der Methoden entsprechend der „Guideline on the use of near infrared spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations“ der EMA (EMA 2014) erbracht werden. Untersucht wurden die Parameter Spezifität, Linearität, Genauigkeit, Präzision, Robustheit und Bestimmungsgrenze. Die Linearität konnte bei allen Methoden durch einen Anstieg der Regressionsgeraden mit  $\geq 0,9933$  sowie Korrelationskoeffizienten, die bei keiner Methode kleiner als 0,9998 waren, über den gesamten zu untersuchenden Konzentrationsbereich nachgewiesen werden. Die ermittelte Wiederholpräzision war bei keiner der untersuchten Methoden größer als 0,15 %. Durch Abbildung einer größtmöglichen Variabilität in den Proben für die Methodenentwicklung durch unterschiedliche Chargen und Messtage ist die Robustheit dieser sichergestellt.

Durch Erstellung eines Genauigkeitsprofils für die Methode jeden Wirkstoffs wurde grafisch die jeweilige Bestimmungsgrenze ermittelt. Zukünftig könnte durch Festlegung von minimal zulässigen Endkonzentrationen, angelehnt an die Bestimmungsgrenzen der NIRS-Methoden, sichergestellt werden, dass die Konzentration aller angefertigten Zytostatikazubereitungen der vier untersuchten Wirkstoffe mit einer Genauigkeit von  $\pm 5$  % mittels NIRS bestimmt werden kann. Dazu müsste die Menge der Trägerlösung angepasst werden, was einen zusätzlichen Arbeitsschritt bei der Zubereitung bedeuten würde. Ein Problem stellt die Spezifität der Methoden dar. PLS-Methoden reichen nicht aus, um die Identifizierung der Analyten sicherzustellen. Daher ist die Spezifität nicht gegeben und Zubereitungen,

## Zusammenfassung und Ausblick

die z. B. mit einem falschen Wirkstoff hergestellt worden sind, werden von der Methode nicht als fehlerhaft erkannt. Durch das Anlegen einer großen Referenzdatenbank und Erstellung einer Ident-Methode mit allen in der Zytostatikaherstellung eingesetzten FAM, Trägerlösungen und deren unterschiedliche Kombinationen könnte die Spezifität der Methoden sichergestellt werden. Kritisch zu untersuchen wäre dabei allerdings die Fähigkeit der Ident-Methode unterschiedliche Biosimilars von monoklonalen Antikörpern zu unterscheiden. Aktuell muss davon ausgegangen werden, dass es sich bei den zu untersuchenden Proben um Lösungen mit bekannter Zusammensetzung handelt bzw. die Spektren der vier Wirkstoffe optisch anhand ihrer Absorptionsbanden unterschieden werden können.

Eine weitere Schwierigkeit bei der Anwendung der NIRS-Analytik für Zytostatikazubereitungen stellen die in der Routine zum Einsatz kommenden, mit Trägerlösung vorbefüllten, Infusionsbeutel dar. Das deklarierte Füllvolumen der Infusionsbeutel unterliegt laut Herstellerangaben einer Schwankung, bedingt durch eine Überfüllung und die langsame Verdunstung von Wasser durch die Polymerschicht des Beutelmaterials während der Lagerung. Mittels NIRS-Methoden können nur Konzentrationen gemessen werden mit denen der absolute Wirkstoffgehalt, welcher in der Onkologie entscheidend ist, anhand des Gesamtvolumens der Zubereitung berechnet wird. Betrachtet man dafür beispielsweise einen 250 ml Viaflo Infusionsbeutel so beträgt das angegebene Durchschnittsvolumen 271 ml, das Maximalvolumen 277 ml und das Minimalvolumen 265 ml (Baxter Deutschland GmbH 2010). Dies entspricht einer prozentualen Abweichung von  $\pm 2,2$  % vom angegebenen Durchschnittsvolumen und muss als Fehler in den berechneten absoluten Wirkstoffgehalt eingehen. Zur Vermeidung dieses Fehlers müsste das genaue Füllvolumen jedes einzelnen Infusionsbeutels vor der Herstellung, z. B. durch Auswiegen, bestimmt werden. Dieser Zwischenschritt würde einen erheblichen zeitlichen Mehraufwand bedeuten und den Vorteil einer schnellen Messung mittels NIRS gegenüber beispielsweise einer gravimetrischen Herstellungskontrolle relativieren.

Abgeleitet davon ergibt sich eine weitere Schwachstelle der quantitativen Analytik von Zytostatikazubereitungen mittels NIRS. Da chemometrische Methoden nur optimal unter den Bedingungen unter denen sie erstellt wurden funktionieren

(Conzen 2005: 27-30), muss für jede Änderung bei der Probenzusammensetzung eine neue Methode, inklusive Kalibrierung und Validierung, erstellt werden. Das bedeutet, dass jeder Wechsel eines FAM oder Applikationsbehältnisses, zum Beispiel durch Lieferengpässe, Krankenkassenverträge oder bessere Konditionen innerhalb von Einkaufsgemeinschaften, mit einem hohen Zeit- und Kostenaufwand für die Entwicklung neuer NIRS-Methoden verbunden wäre. Im Vergleich dazu könnte mittels gravimetrischer Herstellungskontrolle schneller und flexibler auf derartige Änderungen reagiert werden.

Das größte Problem stellt aber das Fehlen einer Messvorrichtung für elastische Infusionsbeutel dar. Messungen mit einer, im Rahmen dieser Arbeit, für Testzwecke entwickelten Vorrichtung für elastische Infusionsbeutel haben gezeigt, dass die größte Schwierigkeit darin besteht, eine Vorrichtung zu entwickeln mit der reproduzierbare Messungen bei einer konstanten Schichtdicke möglich sind. Entsprechend dem Lambert-Beerschen-Gesetz ist eine konstante Schichtdicke für die quantitative Analytik mittels Spektroskopie jedoch zwingend erforderlich. Für die Erstellung der NIRS-Methoden im Rahmen dieser Arbeit wurden alle Proben in Küvetten gemessen. Gegen dieses Vorgehen in der Routine spricht eine Vielzahl an Argumenten wie z. B. die Einhaltung von Arbeitsschutzmaßnahmen, Gewährleistung der Sterilität und des Wirkstoffgehalts der fertigen Zubereitungen.

Anhand der in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse kann zusammengefasst werden, dass eine quantitative Analytik der vier untersuchten Zytostatika- und Antikörperlösungen in Quarzglasküvetten mittels FT-NIRS möglich ist. Die entwickelten Methoden liefern Ergebnisse mit ausreichender Genauigkeit, um als Freigabeparameter bei der Endproduktkontrolle durch den Apotheker dienen zu können. Jedoch wäre ein Einsatz in der Routine, selbst wenn das Problem der fehlenden Messvorrichtung gelöst würde, unwahrscheinlich. Der eigentliche Vorteil der NIRS, die kurze Messzeit, wäre im Routineeinsatz nicht gegeben, da der zeitliche und personelle Aufwand für die Kalibrierung und Validierung aller Wirkstoffe, das Anlegen einer Referenzdatenbank sowie das Ermitteln der exakten Füllvolumina der vorbefüllten Infusionsbeutel und auch das Erstellen neuer NIRS-Methoden bei z. B. Lieferantenwechsel oder Lieferengpässen, viel zu groß wäre.

## 7 Literaturverzeichnis

**Accord Healthcare Limited (2015):** Fachinformation zu Cisplatin Accord 1 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. North Harrow, zuletzt aktualisiert am 01.04.2015.

**Amneal Deutschland GmbH (2016):** Fachinformation zu Irinotecan Amneal 20 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Gröbenzell, zuletzt aktualisiert am 01.12.2016.

**Andersen, Hans Villemoes; Wedelsbäck, Hakan; Hansen, Per Waaben (2013):** NIR Spectrometer Technology Comparison. A white Paper from FOSS. Hg. v. FOSS. Online verfügbar unter <http://www.foss.dk/news/news-overview/201307-nir-technology-whitepaper>, zuletzt geprüft am 23.02.2017.

**ASTM Committee E13 (2012):** E1655 – 05. Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis. ASTM Institution. West Conshohocken, zuletzt aktualisiert am 2012.

**BAK (2012):** Leitlinie der Bundesapothekerkammer zur Qualitätssicherung. Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B. Online verfügbar unter [https://www.abda.de/fileadmin/assets/Praktische\\_Hilfen/Leitlinien/Parenteraliaherstellung/LL\\_Parenteralia\\_toxisch.pdf](https://www.abda.de/fileadmin/assets/Praktische_Hilfen/Leitlinien/Parenteraliaherstellung/LL_Parenteralia_toxisch.pdf), zuletzt geprüft am 07.01.2018.

**BAuA (2014):** TRGS 525. Gefahrstoffe in Einrichtungen der medizinischen Versorgung. In: *Gemeinsames Ministerialblatt* (63), S. 1294 – 1307. Online verfügbar unter [https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRGS/pdf/TRGS-525.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=2](https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRGS/pdf/TRGS-525.pdf?__blob=publicationFile&v=2).

**Baxter Deutschland GmbH (2010):** Viaflo-Plus-System-Volumendaten. Online verfügbar unter [http://www.baxter.de/medizinische\\_fachkreise/therapiegebiete/infusionstherapie.html#5](http://www.baxter.de/medizinische_fachkreise/therapiegebiete/infusionstherapie.html#5), zuletzt geprüft am 11.10.2016.

**BMG (2018):** Verordnung über den Betrieb von Apotheken (Apothekenbetriebsordnung), vom 26.09.1995. Fundstelle: BGBl. I S. 1080.

**Borget, Isabelle; Laville, Isabelle; Paci, Angelo; Michiels, Stefan; Mercier, Lionel; Desmaris, Romain-Pacome; Bourget, Philippe (2006):** Application of an acceptance sampling plan for post-production quality control of chemotherapeutic batches in an hospital pharmacy. In: *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 64 (1), S. 92 – 98.

**Bracher, Franz; Heisig, Peter; Langguth, Peter; et al. (Hg.) (2016):** Arzneibuch-Kommentar. Wissenschaftliche Erläuterungen zum Europäischen Arzneibuch und zum Deutschen Arzneibuch. Kapitel 2.2.40 NIR-Spektroskopie. Unter Mitarbeit von Andreas Link. 50. Aufl.: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart.

**Bruker Optik GmbH (Hg.) (2011):** OPUS Spectroscopy Software. Benutzerhandbuch. QUANT, Version 7.

**Chavez, Pierre-François; Bleye, Charlotte de; Sacré, Pierre-Yves; Rozet, Eric; Hubert, Philippe; Ziemons, Eric (2013):** Near Infrared in-depth Focus. Validation methodologies of near infrared spectroscopy methods in pharmaceutical applications. In: *European Pharmaceutical Review* (18), S. 3 – 6.

**Conzen, Jörg-Peter (2005):** Multivariate Kalibration. Ein praktischer Leitfaden zur Methodenentwicklung in der quantitativen Analytik. 4. Aufl. Ettlingen: Bruker Optik GmbH.

**Dumoulin, Elisabeth D.; Azais, Bernard P.; Guerain, Jacqueline T. (1987):** Determination of Sugar and Ethanol Content in Aqueous Products of Molasses Distilleries by Near Infrared Spectrophotometry. In: *Journal of Food Science* 52 (3), S. 626 – 630.

**EMA (2014):** Guideline on the use of near infrared spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations. Online verfügbar unter [https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/draft-guideline-use-near-infrared-spectroscopy-pharmaceutical-industry-data-requirements-new\\_en-0.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/draft-guideline-use-near-infrared-spectroscopy-pharmaceutical-industry-data-requirements-new_en-0.pdf), zuletzt geprüft am 07.01.2018.

**Europäisches Arzneibuch 8. Ausgabe. Amtliche deutsche Ausgabe (2014).** 1. Aufl. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag.



**Fink, Margit (2002):** Einsatz der Nah-Infrarot (NIR) – Spektroskopie zur quantitativen Bestimmung ausgewählter pflanzlicher Inhaltsstoffe. Technische Universität Braunschweig, Dissertation, S. 23 – 24.

**Günzler, Helmut; Böck, Harald (1990):** IR-Spektroskopie: Eine Einführung. 2. Aufl. Weinheim: Wiley-VCH.

**Halsen, Gabriele; Krämer, Irene (2011):** Assessing the risk to health care staff from long-term exposure to anticancer drugs - the case of monoclonal antibodies. In: *Journal of Oncology Pharmacy Practice* 17 (1), S. 68 – 80.

**Heck, G.; Berger, G.; Kiemen, U.; Latscha, N. (1996):** Aspects of quality management. Accuracy in dosing antineoplastic drugs. In: *Journal of Oncology Pharmacy Practice* 2 (1), S. 29 – 34.

**Heinemann, André (2018):** Zytostatika im Gesundheitsdienst. Informationen zur sicheren Handhabung. Hg. v. Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege. Online verfügbar unter [https://www.bgw-online.de/SharedDocs/Downloads/DE/Medientypen/BGW%20Broschueren/BGW09-042\\_Zytostatika\\_im\\_Gesundheitsdienst\\_Download.pdf;jsessionid=4311ABD921E9307D2B3579D245F9E00E?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.bgw-online.de/SharedDocs/Downloads/DE/Medientypen/BGW%20Broschueren/BGW09-042_Zytostatika_im_Gesundheitsdienst_Download.pdf;jsessionid=4311ABD921E9307D2B3579D245F9E00E?__blob=publicationFile), zuletzt geprüft am 24.11.2018.

**Hellma GmbH & Co. KG (2018):** Küvetten: Material und technische Informationen. Online verfügbar unter <http://www.hellma-analytics.com/text/283/de/material-und-technische-informationen.html>, zuletzt geprüft am 02.04.2018.

**Heuermann, Annette; Heuermann, Matthias (2015):** Rezepturarzneimittel für (Klein-) Kinder: Qualität häufig unzureichend. In: *Pharmazeutische Zeitung* (37). Online verfügbar unter <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=59648>, zuletzt geprüft am 22.02.2018.

**Hexal AG (2017a):** Fachinformation zu Gemcitabin HEXAL® 40 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Hg. v. Hexal AG. Holzkirchen, zuletzt aktualisiert am 01.05.2017.

**Hexal AG (2017b):** Fachinformation zu NeoTaxan® 6 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Holzkirchen, zuletzt aktualisiert am 01.09.2017.

**Kessler, Waltraud (2007):** Multivariate Datenanalyse. Für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik. Ein Lehrbuch. Weinheim: Wiley-VCH.

**Kubelka, Paul; Munk, Franz (1931):** Ein Beitrag zur Optik der Farbanstriche. In: *Zeitschrift für technische Physik* 12, S. 593 – 601.

**Le, Laetitia Minh Mai; Caudron, Eric; Baillet-Guffroy, Arlette; Eveleigh, Luc (2014):** Non-invasive quantification of 5 fluorouracil and gemcitabine in aqueous matrix by direct measurement through glass vials using near-infrared spectroscopy. In: *Talanta* 119, S. 361 – 366.

**Link, Andreas (2014):** NIR-Spektroskopie in der Defektur. Theoretische Grundlagen der Nahinfrarot-Spektroskopie. In: *Deutsche Apotheker Zeitung* (12). Online verfügbar unter <https://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/daz-az/2014/daz-12-2014/nir-spektroskopie-in-der-defektur-theoretische-grundlagen-der-nahinfrarot-spektroskopie>, zuletzt geprüft am 02.02.2017.

**Mark, Howard (1991):** Principles and practice of spectroscopic calibration. Chemical Analysis: A Series of Monographs on Analytical Chemistry and Its Applications. New York: John Wiley & Sons.

**Medac GmbH (2016):** Fachinformation zu Taxomedac® 6 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Wedel, zuletzt aktualisiert am 01.12.2016.

**Medac GmbH (2017):** Fachinformation zu Carbomedac® 10 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Wedel, zuletzt aktualisiert am 01.09.2017.

**Merck KGaA (2014):** Fachinformation zu Erbitux® 5 mg/ml Infusionslösung. Darmstadt, zuletzt aktualisiert am 01.06.2014.

**PIC/S Secretariat (2014):** PIC/S Guide to good practices for the preparation of medicinal products in healthcare establishments. Online verfügbar unter <https://www.picscheme.org/en/publications?tri=all>, zuletzt aktualisiert am 01.03.2014, zuletzt geprüft am 07.01.2018.

**Roche Pharma AG (2018):** Fachinformation zu Avastin® 25 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Grenzach-Wyhlen, zuletzt aktualisiert am 01.03.2018.

**Rücker, Gerhard; Neugebauer, Michael; Willems, Günter Georg (2008):** Instrumentelle pharmazeutische Analytik. Lehrbuch zu spektroskopischen,

chromatographischen, elektrochemischen und thermischen Analysenmethoden ; mit 81 Tabellen. 4., durchges. und aktualisierte Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges., S. 27

**Salzer, Reiner; Thiele, Steffen; Suemmchen, Lydia (a):** Chemgapedia.

Molekülschwingungen. Hg. v. Wiley Information Services GmbH. Online verfügbar unter

[http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/ir\\_spek/molekuelschwingungen.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/ir\\_spek/schwspek/mol\\_spek/ir3\\_4/oszillatoren\\_m19ht0502.vscml.html](http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/ir_spek/molekuelschwingungen.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/ir_spek/schwspek/mol_spek/ir3_4/oszillatoren_m19ht0502.vscml.html), zuletzt geprüft am 18.02.2017.

**Salzer, Reiner; Thiele, Steffen; Suemmchen, Lydia; Bezugla, Evgeniya (b):**

Chemgapedia. IR-Gerätetechnik. Hg. v. Wiley Information Services GmbH. Online verfügbar unter

[http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/ir\\_spek/ir\\_geraete.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/ir\\_spek/ir\\_spektroskopie/ir\\_geraetetechnik/ir\\_8\\_5/ftirspektr\\_mzu0703.vscml.html](http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/ir_spek/ir_geraete.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/ir_spek/ir_spektroskopie/ir_geraetetechnik/ir_8_5/ftirspektr_mzu0703.vscml.html), zuletzt geprüft am 23.02.2017.

**Sanofi-Aventis Deutschland GmbH (2018):** Fachinformation zu Eloxatin 5 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Frankfurt a. M., zuletzt aktualisiert am 01.07.2018.

**Schlingensiepen, Ilse (2017):** Apotheker vor Gericht. Prozess um gepanschte Zytostatika beginnt. In: *Ärzte Zeitung online*. Online verfügbar unter

<https://www.aerztezeitung.de/medizin/krankheiten/krebs/article/947209/apotheker-gericht-prozess-gepanschte-zytostatika-beginnt.html>, zuletzt geprüft am 24.11.2018.

**Skrabal, Peter M. (2009):** Spektroskopie. Eine methodenübergreifende Darstellung vom UV- bis zum NMR-Bereich. 1. Aufl. Zürich: vdf Hochschulverlag.

**Stadapharm GmbH (2017a):** Fachinformation zu ARA-cell® 4000 mg Infusionslösung 50 mg/ml Infusionslösung. Bad Vilbel, zuletzt aktualisiert am 01.07.2017.

**Stadapharm GmbH (2017b):** Fachinformation zu CARBO-cell® 10 mg/ml Infusionslösung, Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Bad Vilbel, zuletzt aktualisiert am 01.07.2017.

**Stadapharm GmbH (2018):** Fachinformation zu FOLI-cell® 1000 mg Injektionslösung. Bad Vilbel, zuletzt aktualisiert am 01.06.2018.

**Statistisches Bundesamt (2014a):** Staat & Gesellschaft - Krankenhäuser - Die 10 häufigsten Krebserkrankungen. Online verfügbar unter <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Krankenhaeuser/Tabellen/Krebserkrankungen.html>, zuletzt geprüft am 11.10.2016.

**Statistisches Bundesamt (2014b):** Staat & Gesellschaft - Todesursachen - Gestorbene nach Todesursachen. Online verfügbar unter <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/GestorbeneAnzahl.html;jsessionid=78A0307315B15C3050729DCD18894344.cae1>, zuletzt geprüft am 06.10.2016.

**Stewart, Bernard W.; Wild, Christopher P. (2014):** World Cancer Report 2014. Lyon: International Agency for Research on Cancer.

**The United States Pharmacopeial Convention (2012):** USP35 / NF30. General Chapter <797>. Pharmaceutical Compounding - Sterile Preparations.

**WHO (2014):** Cancer country profiles 2014. Online verfügbar unter <http://www.who.int/cancer/country-profiles/en/>, zuletzt geprüft am 06.10.2016.

**Zhang, Bin; Chen, Jian-hong; Jiao, Ming-xing (2015):** Determination of Chloride Salt Solution by NIR Spectroscopy. In: *Guang pu xue yu guang pu fen xi = Guang pu* 35 (7), S. 1840 – 1843.

## 8 Anhang

Sehr geehrter Herr Billing,

in der nachfolgenden Tabelle sende ich Ihnen die während der Chargenfreigabe ermittelten Gehaltswerte für die angefragten Chargen CARBO-cell.

Stärke	Charge	Gehalt
600 mg	6D103F6	99,4%
450 mg	5K097L5	99,5%
600 mg	6G104H6	99,0%
450 mg	6H107K6	99,7%
450 mg	7F119G7	100,9%
600 mg	6L110D7	99,2%

Mit freundlichen Grüßen

I.V. [REDACTED]



[REDACTED]  
Head of Quality Control and Quality Assurance  
Alles Gute | All the best  
[www.stadapharm.de](http://www.stadapharm.de)

Telefon: +49 511 54608  
Telefax: +49 511 54608  
E-Mail: [REDACTED]

STADAPHARM GmbH | Stadastraße 2 -18 | 61118 Bad Vilbel | Germany  
Betriebsstätte Hannover: Feodor-Lynen-Straße 35 | 30625 Hannover | Germany



STADAPHARM GmbH  
ein Unternehmen der STADA Arzneimittel AG  
Stadastraße 2 - 18  
61118 Bad Vilbel, Germany  
Tel.: +49 (0) 61 01 / 603 0  
Fax: +49 (0) 61 01 / 603 3888  
<http://www.stadapharm.de>

Geschäftsführer: Ingrid Blumenthal, Patrick ~~Schlebowski~~, Thomas Heyer  
Sitz der Gesellschaft: Bad Vilbel  
Registergericht: Amtsgericht Frankfurt am Main, HRB 78412

Diese E-Mail enthält vertrauliche und/oder rechtlich geschützte Informationen. Sollten Sie nicht der richtige Adressat sein oder diese E-Mail irrtümlich erhalten haben, informieren Sie bitte sofort den Absender und löschen anschließend diese E-Mail. Das unerlaubte Kopieren sowie die unbefugte Weitergabe des Inhalts dieser E-Mail sind nicht gestattet.

~~This e-mail may contain confidential and/or privileged information. If you are not the intended recipient or if you have received this e-mail in error, please notify the sender immediately and delete this e-mail. Any unauthorized copying, disclosure or distribution of the contents of this e-mail is strictly prohibited.~~

**Anhang 1:** Angaben des pharmazeutischen Herstellers zu den tatsächlichen Wirkstoffgehalten von CARBO-cell®

## Anhang

Guten Tag Herr Billing,

Wie eben telefonisch besprochen die Daten:

Bei den Analysenzertifikaten handelt es sich um Ausdrücke aus dem Laborinformationssystem, die nicht so leicht lesbar sind und so auch nicht verschickt werden dürfen.

Die von Ihnen benötigten und nachgefragten Wirkstoffgehalte der einzelnen Chargen, sind in nachstehender Tabelle aufgeführt.

**Gemcitabin Hexal 40 mg/ml Vial**

Charge:	Verfall:	Laufzeitspezifikation:	Wirkstoffgehalt:
FW1836	09/2017	38,0 - 42,0 mg/ml	40,0 mg/ml
GC0106	12/2017	38,0 - 42,0 mg/ml	40,1 mg/ml
GE3582	01/2018	38,0 - 42,0 mg/ml	40,3 mg/ml
GK2553	03/2018	38,0 - 42,0 mg/ml	40,4 mg/ml
FW7950AA	09/2017	38,0 - 42,0 mg/ml	40,2 mg/ml
GL2108	05/2018	38,0 - 42,0 mg/ml	40,3 mg/ml
GN2233	05/2018	38,0 - 42,0 mg/ml	40,1 mg/ml

Viele Grüße nach Dresden!

  
Key Account Manager Klinik regional

Hexal AG

Industriestr. 25  
D-83607 Holzkirchen  
GERMANY

Fax +49 89-9540086 

Mobile +49 

@hexal.com

[www.hexal.de](http://www.hexal.de)

Hexal AG | Sitz der Gesellschaft: Holzkirchen | Amtsgericht: München HRB-Nr. 110375

Vorstand: Dr. Stephan Eder, Dr. Andreas Eberhorn, Wolfgang Späth, Matthias Weber, Dieter Ziebold.

Vorsitzender des Aufsichtsrates: Tobias Hestler.

**Anhang 2:** Angaben des pharmazeutischen Herstellers zu den tatsächlichen Wirkstoffgehalten von Gemcitabin HEXAL®

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux-NaCl_Sample_1	1	200	800	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_2	1,1	220	780	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_3	1,2	240	760	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_4	1,4	280	720	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_5	1,5	300	700	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_6	1,6	320	680	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_7	1,8	360	640	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_8	1,9	380	620	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_9	2	400	600	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_10	2,1	420	580	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_11	2,3	460	540	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_12	2,5	500	500	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_13	2,6	520	480	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_14	2,7	540	460	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_15	2,8	560	440	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_16	3	600	400	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_17	3,1	620	380	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_18	3,3	660	340	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_19	3,4	680	320	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_20	3,5	700	300	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_21	3,7	740	260	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_22	3,9	780	220	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_23	4	800	200	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_24	4,2	840	160	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_25	4,3	860	140	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_26	4,5	900	100	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_27	4,6	920	80	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_28	4,8	960	40	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_29	4,9	980	20	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_30	5	1000	0	06.01.2017	22238 (07/20)	E0486 (10/21)

**Anhang 3:** Cetuximab-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Carbomedac (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Carbomedac-G5% Sample_1	0,25	25	975	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_2	0,5	50	950	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_3	0,75	75	925	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_4	1	100	900	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_5	1,25	125	875	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_6	1,5	150	850	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_7	1,75	175	825	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_8	2	200	800	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_9	2,25	225	775	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_10	2,5	250	750	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_11	2,75	275	725	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_12	3	300	700	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_13	3,25	325	675	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_14	3,5	350	650	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_15	3,75	375	625	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_16	4	400	600	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_17	4,25	425	575	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_18	4,5	450	550	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_19	4,75	475	525	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_20	5	500	500	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_21	5,5	550	450	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_22	6	600	400	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_23	6,5	650	350	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_24	7	700	300	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_25	7,5	750	250	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_26	8	800	200	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_27	8,5	850	150	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_28	9	900	100	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_29	9,5	950	50	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_30	10	1000	0	05.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)

**Anhang 4:** Carboplatin-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)



## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin-NaCl_Sample_1	1	40	960	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_2	2	80	920	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_3	3	120	880	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_4	4	160	840	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_5	5	200	800	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_6	6	240	760	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_7	7	280	720	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_8	8	320	680	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_9	8,5	340	660	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_10	9	360	640	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_11	9,5	380	620	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_12	10	400	600	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_13	10,5	420	580	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_14	11	440	560	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_15	11,5	460	540	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_16	12	480	520	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_17	12,5	500	500	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_18	13	520	480	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_19	14	560	440	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_20	15	600	400	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_21	16	640	360	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_22	17	680	320	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_23	18	720	280	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_24	19	760	240	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_25	20	800	200	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_26	21	840	160	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_27	22	880	120	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_28	23	920	80	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_29	24	960	40	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_30	25	1000	0	06.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0486 (10/21)

**Anhang 5:** Bevacizumab-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl_Sample_1	1	25	975	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_2	2	50	950	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_3	3	75	925	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_4	4	100	900	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_5	5	125	875	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_6	6	150	850	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_7	7	175	825	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_8	8	200	800	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_9	9	225	775	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_10	10	250	750	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_11	11	275	725	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_12	12	300	700	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_13	13	325	675	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_14	14	350	650	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_15	15	375	625	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_16	16	400	600	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_17	17	425	575	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_18	18	450	550	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_19	19	475	525	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_20	20	500	500	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_21	22	550	450	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_22	24	600	400	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_23	26	650	350	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_24	28	700	300	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_25	30	750	250	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_26	32	800	200	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_27	34	850	150	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_28	36	900	100	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_29	38	950	50	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_30	40	1000	0	20.12.2016	GK2553 (03/18)	E0485 (10/21)

**Anhang 6:** Gemcitabin-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Foli-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
FoliCell-NaCl_Sample_1	0,25	25	975	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_2	0,5	50	950	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_3	0,75	75	925	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_4	1	100	900	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_5	1,25	125	875	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_6	1,5	150	850	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_7	1,75	175	825	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_8	2	200	800	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_9	2,25	225	775	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_10	2,5	250	750	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_11	2,75	275	725	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_12	3	300	700	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_13	3,25	325	675	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_14	3,5	350	650	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_15	3,75	375	625	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_16	4	400	600	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_17	4,25	425	575	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_18	4,5	450	550	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_19	4,75	475	525	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_20	5	500	500	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_21	5,5	550	450	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_22	6	600	400	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_23	6,5	650	350	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_24	7	700	300	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_25	7,5	750	250	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_26	8	800	200	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_27	8,5	850	150	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_28	9	900	100	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_29	9,5	950	50	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell-NaCl_Sample_30	10	1000	0	15.12.2016	6H061I6 (06/18)	E0485 (10/21)

**Anhang 7:** Calciumfolinat-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Ara-Cell (50 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
AraCell-NaCl_Sample_1	1	20	980	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_2	2	40	960	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_3	5	100	900	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_4	6	120	880	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_5	8	160	840	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_6	10	200	800	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_7	11	220	780	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_8	13	260	740	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_9	15	300	700	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_10	16	320	680	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_11	19	380	620	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_12	20	400	600	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_13	21	420	580	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_14	22	440	560	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_15	24	480	520	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_16	25	500	500	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_17	27	540	460	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_18	29	580	420	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_19	30	600	400	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_20	32	640	360	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_21	34	680	320	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_22	36	720	280	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_23	38	760	240	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_24	40	800	200	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_25	42	840	160	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_26	44	880	120	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_27	46	920	80	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_28	48	960	40	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_29	49	980	20	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)
AraCell-NaCl_Sample_30	50	1000	0	15.12.2016	6F336L6 (04/18)	E0485 (10/21)

**Anhang 8:** Cytarabin-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Irinotecan Amneal (20 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
IrinotecanAmneal-G5% Sample 1	0,6	30	970	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 2	1,2	60	940	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 3	1,8	90	910	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 4	2,4	120	880	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 5	3	150	850	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 6	3,6	180	820	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 7	4,2	210	790	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 8	4,8	240	760	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 9	5,4	270	730	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 10	6	300	700	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 11	6,6	330	670	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 12	7,2	360	640	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 13	8,4	420	580	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 14	9	450	550	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 15	9,6	480	520	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 16	10,2	510	490	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 17	10,8	540	460	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 18	11,4	570	430	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 19	12	600	400	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 20	12,6	630	370	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 21	13,2	660	340	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 22	14,4	720	280	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 23	15	750	250	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 24	15,6	780	220	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 25	16,2	810	190	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 26	17,4	870	130	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 27	18	900	100	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 28	18,6	930	70	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 29	19,6	980	20	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)
IrinotecanAmneal-G5% Sample 30	20	1000	0	20.12.2016	C814 (01/18)	160758091 (01/19)

**Anhang 9:** Irinotecan-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen NeoTaxan (6 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Neotaxan-NaCl_Sample_1	0,3	50	950	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_2	0,6	100	900	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_3	0,75	125	875	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_4	0,9	150	850	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_5	1,05	175	825	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_6	1,2	200	800	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_7	1,35	225	775	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_8	1,65	275	725	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_9	1,8	300	700	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_10	1,95	325	675	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_11	2,1	350	650	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_12	2,25	375	625	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_13	2,4	400	600	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_14	2,55	425	575	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_15	2,7	450	550	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_16	3	500	500	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_17	3,15	525	475	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_18	3,45	575	425	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_19	3,6	600	400	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_20	3,75	625	375	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_21	4,05	675	325	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_22	4,2	700	300	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_23	4,5	750	250	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_24	4,65	775	225	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_25	4,8	800	200	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_26	5,1	850	150	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_27	5,25	875	125	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_28	5,4	900	100	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_29	5,55	925	75	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)
Neotaxan-NaCl_Sample_30	6	1000	0	20.12.2016	GK0709 (01/19)	E0485 (10/21)

**Anhang 10: Paclitaxel-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)**

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Eloxatin (5 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Eloxatin-G5% Sample_1	1	200	800	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_2	1,1	220	780	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_3	1,2	240	760	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_4	1,4	280	720	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_5	1,5	300	700	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_6	1,6	320	680	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_7	1,8	360	640	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_8	1,9	380	620	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_9	2	400	600	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_10	2,1	420	580	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_11	2,3	460	540	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_12	2,5	500	500	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_13	2,6	520	480	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_14	2,7	540	460	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_15	2,8	560	440	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_16	3	600	400	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_17	3,1	620	380	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_18	3,3	660	340	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_19	3,4	680	320	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_20	3,5	700	300	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_21	3,7	740	260	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_22	3,9	780	220	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_23	4	800	200	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_24	4,2	840	160	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_25	4,3	860	140	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_26	4,5	900	100	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_27	4,6	920	80	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_28	4,8	960	40	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_29	4,9	980	20	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)
Eloxatin-G5% Sample_30	5	1000	0	05.01.2017	6F190A (07/19)	160758091 (01/19)

**Anhang 11: Oxaliplatin-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)**

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Cisplatin Accord (1 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_1	0,03	30	970	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_2	0,06	60	940	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_3	0,09	90	910	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_4	0,12	120	880	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_5	0,15	150	850	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_6	0,18	180	820	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_7	0,21	210	790	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_8	0,24	240	760	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_9	0,27	270	730	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_10	0,3	300	700	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_11	0,33	330	670	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_12	0,36	360	640	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_13	0,39	390	610	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_14	0,42	420	580	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_15	0,45	450	550	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_16	0,51	510	490	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_17	0,54	540	460	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_18	0,57	570	430	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_19	0,6	600	400	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_20	0,63	630	370	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_21	0,66	660	340	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_22	0,72	720	280	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_23	0,75	750	250	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_24	0,78	780	220	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_25	0,81	810	190	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_26	0,84	840	160	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_27	0,87	870	130	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_28	0,9	900	100	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_29	0,96	960	40	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)
Cisplatin Accord-NaCl_Sample_30	1	1000	0	20.12.2016	PT02177 (05/19)	E0485 (10/21)

**Anhang 12: Cisplatin-Proben für Versuchsmessungen mit Apo-Ident NIR-Spektrometer (Hiperscan)**



## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux_Sample_1	1	100	400	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_2	1,1	110	390	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_3	1,2	120	380	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_4	1,4	140	360	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_5	1,5	150	350	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_6	1,6	160	340	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_7	1,8	180	320	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_8	1,9	190	310	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_9	2	200	300	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_10	2,1	210	290	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_11	2,3	230	270	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_12	2,5	250	250	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_13	2,6	260	240	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_14	2,7	270	230	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_15	2,8	280	220	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_16	3	300	200	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_17	3,1	310	190	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_18	3,3	330	170	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_19	3,4	340	160	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_20	3,5	350	150	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_21	3,7	370	130	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_22	3,9	390	110	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_23	4	400	100	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_24	4,2	420	80	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_25	4,3	430	70	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_26	4,5	450	50	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_27	4,6	460	40	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_28	4,8	480	20	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_29	4,9	490	10	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)
Erbitux_Sample_30	5	500	0	03.12.2015	BS-108696 (06/16)	D9779 (03/20)

**Anhang 13: Cetuximab-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)**

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Carbomedac (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Carbomedac_Sample_1	0,25	25	975	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_2	0,5	50	950	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_3	0,75	75	925	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_4	1	100	900	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_5	1,25	125	875	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_6	1,5	150	850	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_7	1,75	175	825	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_8	2	200	800	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_9	2,25	225	775	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_10	2,5	250	750	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_11	2,75	275	725	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_12	3	300	700	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_13	3,25	325	675	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_14	3,5	350	650	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_15	3,75	375	625	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_16	4	400	600	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_17	4,25	425	575	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_18	4,5	450	550	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_19	4,75	475	525	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_20	5	500	500	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_21	5,5	550	450	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_22	6	600	400	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_23	6,5	650	350	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_24	7	700	300	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_25	7,5	750	250	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_26	8	800	200	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_27	8,5	850	150	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_28	9	900	100	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_29	9,5	880	46,3	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)
Carbomedac_Sample_30	10	500	500	14.12.2015	E150254A (08/16)	15H15201 (07/17)

**Anhang 14:** Carboplatin-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin_Sample_1	1	20	480	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_2	2	40	460	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_3	3	60	440	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_4	4	80	420	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_5	5	100	400	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_6	6	120	380	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_7	7	140	360	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_8	8	160	340	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_9	9	180	320	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_10	10	200	300	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_11	11	220	280	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_12	12	240	260	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_13	13	260	240	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_14	14	280	220	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_15	15	300	200	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_16	16	320	180	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_17	17	340	160	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_18	18	360	140	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_19	19	380	120	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_20	20	400	100	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_21	21	420	80	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_22	22	440	60	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_23	23	460	40	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_24	24	480	20	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_25	25	500	0	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_26	8,5	170	330	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_27	9,5	190	310	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_28	10,5	210	290	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_29	11,5	230	270	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)
Avastin_Sample_30	12,5	250	250	18.12.2015	B7220H01 (04/17)	D9882 (06/20)

**Anhang 15:** Bevacizumab-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal_Sample_1	2,00	10	190	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_2	4,00	20	180	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_3	6,00	30	170	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_4	8,00	40	160	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_5	10,00	50	150	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_6	12,00	60	140	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_7	14,00	70	130	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_8	16,00	80	120	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_9	18,00	90	110	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_10	22,00	110	90	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_11	24,00	120	80	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_12	26,00	130	70	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_13	28,00	140	60	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_14	30,00	150	50	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_15	32,00	160	40	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_16	34,00	170	30	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_17	36,00	180	20	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_18	38,00	190	10	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_19	40,00	200	0	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_20	1,00	5	195	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_21	3,00	15	185	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_22	5,00	25	175	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_23	7,00	35	165	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_24	9,00	45	155	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_25	11,00	55	145	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_26	13,00	65	135	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_27	15,00	75	125	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_28	17,00	85	115	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_29	19,00	95	105	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)
GemciHexal_Sample_30	20,00	100	100	26.11.2015	FD3971 (01/17)	D9882 (06/20)

**Anhang 16:** Gemcitabin-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Foli-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
FoliCell_Sample-61	0,25	25	975	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-62	0,5	50	950	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-63	0,75	75	925	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-64	1	100	900	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-65	1,25	125	875	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-66	1,5	150	850	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-67	1,75	175	825	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-68	2	200	800	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-69	2,25	225	775	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-70	2,5	250	750	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-71	2,75	275	725	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-72	3	300	700	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-73	3,25	325	675	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-74	3,5	350	650	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-75	3,75	375	625	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-76	4	400	600	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-77	4,25	425	575	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-78	4,5	450	550	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-79	4,75	475	525	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-80	5	500	500	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-81	5,5	550	450	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-82	6	600	400	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-83	6,5	650	350	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-84	7	700	300	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-85	7,5	750	250	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-86	8	800	200	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-87	8,5	850	150	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-88	9	900	100	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-89	9,5	950	50	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)
FoliCell_Sample-90	10	1000	0	05.12.2016	6H06116 (06/18)	E0485 (10/21)

**Anhang 17:** Calciumfolinat-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Ara-Cell (50 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
AraCell_Sample_1	1	10	490	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_2	2	20	480	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_3	5	50	450	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_4	6	60	440	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_5	8	80	420	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_6	10	100	400	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_7	11	110	390	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_8	13	130	370	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_9	15	150	350	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_10	16	160	340	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_11	19	190	310	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_12	20	200	300	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_13	21	210	290	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_14	22	220	280	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_15	24	240	260	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_16	43	260	42,3	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_17	28	280	220	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_18	30	300	200	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_19	32	320	180	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_20	34	340	160	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_21	36	360	140	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_22	38	380	120	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_23	47	390	24,9	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_24	40	400	100	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_30	50	500	0	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_31	24,7	410	420	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_32	24,42	420	440	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_33	25	450	450	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_34	27,74	470	480	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)
AraCell_Sample_35	27,74	480	490	14.12.2015	5G30815 (05/17)	D 9882 (06/20)

**Anhang 18:** Cytarabin-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Irinotecan Amneal (20 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
IrinotecanAmneal_Sample_1	0,6	15	485	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_2	1,2	30	470	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_3	1,8	45	455	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_4	2,4	60	440	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_5	3	75	425	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_6	3,6	90	410	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_7	4,2	105	395	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_8	4,8	120	380	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_9	5,4	135	365	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_10	6	150	350	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_11	6,6	165	335	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_12	7,2	180	320	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_13	8,4	210	290	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_14	9	225	275	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_15	9,6	240	260	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_16	10,2	255	245	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_17	10,8	270	230	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_18	11,4	285	215	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_19	12	300	200	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_20	12,6	315	185	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_21	13,2	330	170	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_22	14,4	360	140	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_23	15	375	125	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_24	15,6	390	110	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_25	16,2	405	95	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_26	17,4	435	65	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_27	18	450	50	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_28	18,6	465	35	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_29	19,6	490	10	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)
IrinotecanAmneal_Sample_30	20	500	0	14.12.2015	B733U (05/17)	15H15201 (07/17)

**Anhang 19: Irinotecan-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)**

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen NeoTaxan (6 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
TaxoMedac_Sample_1	0,3	25	475	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_2	0,6	50	450	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_3	0,6	50	450	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_4	0,9	75	425	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_5	1,2	100	400	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_6	1,2	100	400	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_7	1,5	125	375	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_8	1,5	125	375	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_9	1,8	150	350	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_10	2,1	175	325	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_11	2,1	175	325	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_12	2,4	200	300	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_13	2,4	200	300	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_14	2,7	225	275	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_15	2	250	500	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_16	3	250	250	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_17	3,3	275	225	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_18	3,3	275	225	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_19	3,6	300	200	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_20	3,9	325	175	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_21	3,9	325	175	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_22	4,2	350	150	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_23	4,5	375	125	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_24	4,5	375	125	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_25	4,8	400	100	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_26	5,1	425	75	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_27	5,4	450	50	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_28	5,4	450	50	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_29	5,7	475	25	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)
TaxoMedac_Sample_30	6	500	0	14.12.2015	M140722C (12/17)	D9882 (06/20)

**Anhang 20:** Paclitaxel-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)



## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Eloxatin (5 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Eloxatin_Sample_1	1	100	400	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_2	1,1	110	390	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_3	1,2	120	380	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_4	1,4	140	360	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_5	1,5	150	350	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_6	1,6	160	340	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_7	1,8	180	320	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_8	1,9	190	310	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_9	2	200	300	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_10	2,1	210	290	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_11	2,3	230	270	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_12	2,5	250	250	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_13	2,6	260	240	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_14	2,7	270	230	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_15	2,8	280	220	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_16	3	300	200	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_17	3,1	310	190	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_18	3,3	330	170	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_19	3,4	340	160	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_20	3,5	350	150	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_21	3,7	370	130	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_22	3,9	390	110	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_23	4	400	100	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_24	4,2	420	80	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_25	4,3	430	70	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_26	4,5	450	50	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_27	4,6	460	40	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_28	4,8	480	20	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_29	4,9	490	10	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)
Eloxatin_Sample_30	5	500	0	17.12.2015	5F150A (04/18)	15D05E8Y (03/17)

**Anhang 21: Oxaliplatin-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)**

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Cisplatin Accord (1 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Cisplatin Accord_Sample_1	0,03	15	485	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_2	0,06	30	470	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_3	0,09	45	455	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_4	0,12	60	440	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_5	0,15	75	425	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_6	0,18	90	410	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_7	0,21	105	395	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_8	0,24	120	380	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_9	0,27	135	365	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_10	0,3	150	350	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_11	0,33	165	335	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_12	0,36	180	320	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_13	0,39	195	305	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_14	0,42	210	290	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_15	0,45	225	275	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_16	0,51	255	245	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_17	0,54	270	230	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_18	0,57	285	215	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_19	0,6	300	200	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_20	0,63	315	185	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_21	0,66	330	170	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_22	0,72	360	140	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_23	0,75	375	125	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_24	0,78	390	110	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_25	0,81	405	95	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_26	0,84	420	80	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_27	0,87	435	65	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_28	0,9	450	50	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_29	0,96	480	20	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)
Cisplatin Accord_Sample_30	1	500	0	20.10.2016	HT0366 (12/17)	E0249 (03/21)

**Anhang 22:** Cisplatin-Proben für Versuchsmessungen mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux-NaCl_Sample_1	0,2	20	480	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_2	0,3	30	470	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_4	0,6	60	440	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_5	0,65	65	435	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_6	0,95	95	405	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_7	1,05	105	395	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_8	1,2	120	380	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_10	1,25	125	375	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_11	2,8	280	220	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_13	4,9	490	10	07.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_19	0,2	20	480	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_20	0,3	30	470	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_22	0,6	60	440	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_23	0,65	65	435	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_24	0,95	95	405	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_25	1,05	105	395	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_26	1,2	120	380	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_28	1,25	125	375	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_29	2,8	280	220	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_31	4,9	490	10	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_37	1,45	145	355	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_38	1,6	160	340	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_39	1,7	170	330	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_40	1,9	190	310	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_41	1,95	195	305	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_42	2,15	215	285	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_43	2,55	255	245	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_44	2,85	285	215	14.04.2016	207598 (05/18)	15K01E3N (01/17)
Erbitux-NaCl_Sample_45	0,3	30	470	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_46	0,3	30	470	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)

**Anhang 23:** Cetuximab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux-NaCl Sample_47	0,45	45	455	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_48	0,9	90	410	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_49	1,15	115	385	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_50	1,2	120	380	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_51	1,2	120	380	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_52	1,4	140	360	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_53	1,85	185	315	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_54	2,05	205	295	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_55	2,25	225	275	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_56	2,3	230	270	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_57	2,45	245	255	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_58	2,75	275	225	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_59	2,8	280	220	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_60	2,8	280	220	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_61	2,95	295	205	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_62	3	300	200	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_63	3,05	305	195	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_64	3,2	320	180	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_65	3,45	345	155	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_66	3,5	350	150	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_67	3,75	375	125	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_68	3,8	380	120	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_69	3,85	385	115	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_70	4,5	450	50	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_71	4,65	465	35	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_72	4,9	490	10	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_73	4,9	490	10	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_74	5	500	0	21.04.2016	189651 (11/17)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_75	0,25	25	475	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_76	0,3	30	470	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)

**Anhang 23 (Fortsetzung):** Cetuximab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux-NaCl_Sample_77	0,30	30	470	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_78	0,80	80	420	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_79	1,2	120	380	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_80	1,20	120	380	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_81	1,45	145	355	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_82	1,80	180	320	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_83	1,95	195	305	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_84	2,00	200	300	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_85	2,40	240	260	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_86	2,60	260	240	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_87	2,70	270	230	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_88	2,8	280	220	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_89	2,8	280	220	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_90	2,90	290	210	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_91	3,00	300	200	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_92	3,40	340	160	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_93	3,55	355	145	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_94	3,60	360	140	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_95	3,65	365	135	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_96	3,70	370	130	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_97	4,00	400	100	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_98	4,15	415	85	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_99	4,55	455	45	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_100	4,60	460	40	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_101	4,70	470	30	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_102	4,80	480	20	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_103	4,9	490	10	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_104	4,9	490	10	28.04.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_105	0,05	5	495	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl_Sample_106	0,1	10	490	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)

**Anhang 23 (Fortsetzung):** Cetuximab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux-NaCl Sample_107	0,30	30	470	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_108	0,30	30	470	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_109	0,45	45	455	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_110	0,50	50	450	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_111	0,55	55	445	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_112	0,60	60	440	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_113	0,70	70	430	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_114	0,85	85	415	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_115	0,95	95	405	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_116	1,2	120	380	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_117	1,20	120	380	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_118	1,50	150	350	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_119	1,65	165	335	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_120	1,90	190	310	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_121	2,15	215	285	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_122	2,40	240	260	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_123	2,55	255	245	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_124	2,65	265	235	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_125	2,8	280	220	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_126	3,25	325	175	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_127	3,95	395	105	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_128	4,05	405	95	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_129	4,35	435	65	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_130	4,40	440	60	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_131	4,7	470	30	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_132	4,75	475	25	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_133	4,9	490	10	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_134	4,9	490	10	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_135	0,15	15	485	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_136	0,3	30	470	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)

**Anhang 23 (Fortsetzung):** Cetuximab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux-NaCl Sample_137	0,3	30	470	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_138	1,00	100	400	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_139	1,10	110	390	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_140	1,2	120	380	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_141	1,2	120	380	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_142	1,25	125	375	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_143	1,55	155	345	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_144	1,60	160	340	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_145	1,75	175	325	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_146	2,10	210	290	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_147	2,20	220	280	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_148	2,50	250	250	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_149	2,60	260	240	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_150	2,75	275	225	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_151	2,8	280	220	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_152	2,8	280	220	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_153	2,8	280	220	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_154	2,85	285	215	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_155	3,10	310	190	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_156	3,30	330	170	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_157	3,35	335	165	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_158	3,90	390	110	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_159	4,10	410	90	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_160	4,25	425	75	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_161	4,30	430	70	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_162	4,85	485	15	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_163	4,9	490	10	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_164	4,9	490	10	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_165	4,90	490	10	26.05.2016	211701 (10/19)	D9996 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample_166	5,00	500	0	26.05.2016	BS-110411 (03/18)	D9996 (09/20)

**Anhang 23 (Fortsetzung):** Cetuximab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin-NaCl_Sample_1	0,20	4	496	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_2	0,50	10	490	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_3	0,50	10	490	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_4	0,80	16	484	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_5	1,60	32	468	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_6	3,60	72	428	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_7	4,00	80	420	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_8	4,80	96	404	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_9	5,00	100	400	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_10	5,60	112	388	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_11	6,80	136	364	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_12	9,00	180	320	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_13	9,00	180	320	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_14	9,60	192	308	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_15	10,80	216	284	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_16	13,20	264	236	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_17	13,60	272	228	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_18	14,00	280	220	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_19	16,00	320	180	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_20	16,00	320	180	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_21	16,80	336	164	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_22	17,00	340	160	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_23	18,00	360	140	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_24	18,00	360	140	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_25	19,00	380	120	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_26	22,80	456	44	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_27	23,50	470	30	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_28	23,60	472	28	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_29	24,00	480	20	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)
Avastin-NaCl_Sample_30	24,00	480	20	14.04.2016	B7217H02 (03/17)	15K01E3N (01/17)

**Anhang 24:** Bevacizumab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)



## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin-NaCl Sample_31	0,20	4	496	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_32	0,50	10	490	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_33	0,50	10	490	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_34	0,80	16	484	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_35	1,60	32	468	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_36	3,60	72	428	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_37	4,00	80	420	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_38	4,80	96	404	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_39	5,00	100	400	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_40	5,60	112	388	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_41	6,80	136	364	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_42	9,00	180	320	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_43	9,00	180	320	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_44	9,60	192	308	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_45	10,80	216	284	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_46	13,20	264	236	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_47	13,60	272	228	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_48	14,00	280	220	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_49	16,00	320	180	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_50	16,00	320	180	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_51	16,80	336	164	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_52	17,00	340	160	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_53	18,00	360	140	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_54	18,00	360	140	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_55	19,00	380	120	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_56	22,80	456	44	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_57	23,50	470	30	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_58	23,60	472	28	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_59	24,00	480	20	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_60	24,00	480	20	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)

**Anhang 24 (Fortsetzung):** Bevacizumab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin-NaCl_Sample_61	25,00	500	0	21.04.2016	B8004H07 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_62	0,50	10	490	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_63	0,50	10	490	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_64	1,00	20	480	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_65	2,00	40	460	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_66	2,40	48	452	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_67	3,00	60	440	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_68	3,20	64	436	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_69	5,20	104	396	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_70	6,40	128	372	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_71	8,00	160	340	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_72	8,00	160	340	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_73	8,80	176	324	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_74	9,00	180	320	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_75	9,00	180	320	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_76	11,60	232	268	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_77	12,40	248	252	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_78	12,80	256	244	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_79	14,40	288	212	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_80	14,60	292	208	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_81	16,00	320	180	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_82	16,00	320	180	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_83	16,40	328	172	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_84	19,20	384	116	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_85	19,60	392	108	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_86	20,80	416	84	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_87	21,20	424	76	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_88	24,00	480	20	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_89	24,00	480	20	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_90	24,30	486	14	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)

**Anhang 24 (Fortsetzung):** Bevacizumab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin-NaCl_Sample_91	24,40	488	12	28.04.2016	B7073H01 (05/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_92	0,50	10	490	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_93	0,50	10	490	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_94	1,20	24	476	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_95	1,20	24	476	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_96	2,00	40	460	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_97	2,80	56	444	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_98	4,00	80	420	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_99	5,60	112	388	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_100	6,00	120	380	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_101	6,00	120	380	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_102	7,00	140	360	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_103	8,40	168	332	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_104	9,00	180	320	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_105	9,00	180	320	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_106	10,00	200	300	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_107	10,00	200	300	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_108	10,40	208	292	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_109	12,00	240	260	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_110	14,80	296	204	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_111	15,20	304	196	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_112	15,60	312	188	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_113	16,00	320	180	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_114	16,00	320	180	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_115	17,20	344	156	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_116	20,00	400	100	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_117	20,40	408	92	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_118	23,00	460	40	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_119	23,20	464	36	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_120	24,00	480	20	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)

**Anhang 24 (Fortsetzung):** Bevacizumab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin- NaCl_Sample_121	24,00	480	20	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_122	0,30	6	494	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_123	0,50	10	490	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_124	0,50	10	490	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_125	0,60	12	488	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_126	1,60	32	468	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_127	2,00	40	460	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_128	2,40	48	452	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_129	2,80	56	444	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_130	3,60	72	428	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_131	4,00	80	420	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_132	4,40	88	412	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_133	4,40	88	412	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_134	5,20	104	396	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_135	6,40	128	372	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_136	6,80	136	364	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_137	9,00	180	320	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_138	9,00	180	320	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_139	12,00	240	260	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_140	15,00	300	200	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_141	16,00	320	180	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_142	16,00	320	180	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_143	16,00	320	180	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_144	17,60	352	148	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_145	18,40	368	132	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_146	25,00	500	0	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_147	21,60	432	68	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_148	22,00	440	60	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_149	24,00	480	20	12.05.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_150	25,00	500	0	28.04.2016	B8006H03 (06/17)	D9996 (09/20)

**Anhang 24 (Fortsetzung):** Bevacizumab-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Carbo-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
CarboCell-Glucose_Sample_1	0,050	5	995	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_2	0,099	10	990	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_3	0,199	10	490	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_4	0,199	10	490	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_5	0,497	25	475	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_6	0,696	35	465	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_7	1,491	75	425	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_8	1,590	80	420	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_9	1,988	100	400	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_10	1,988	100	400	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_11	2,982	150	350	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_12	3,380	170	330	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_13	3,479	175	325	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_14	3,877	195	305	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_15	4,175	210	290	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_16	4,274	215	285	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_17	4,970	250	250	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_18	4,970	250	250	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_19	5,169	260	240	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_20	5,964	300	200	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_21	7,256	365	135	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_22	7,952	400	100	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_23	8,946	450	50	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_24	8,946	450	50	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_25	9,045	455	45	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_26	9,244	465	35	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_27	9,443	475	25	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_28	9,741	490	10	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_29	9,940	500	0	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)
CarboCell_Glucose_Sample_30	9,940	500	0	14.07.2016	6D103F6 (08/17)	154428091 (09/18)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

## Anhang 25: Carboplatin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml) *	Volumen Carbo-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
CarboCell-Glucose_Sample_31	0,199	10	490	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_32	0,199	10	490	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_33	0,298	15	485	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_34	0,398	20	480	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_35	0,497	25	475	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_36	0,696	35	465	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_37	0,795	40	460	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_38	0,795	40	460	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_39	1,093	55	445	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_40	1,988	100	400	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_41	1,988	100	400	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_42	2,187	110	390	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_43	3,181	160	340	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_44	3,578	180	320	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_45	4,374	220	280	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_46	4,473	225	275	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_47	4,473	225	275	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_48	4,672	235	265	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_49	4,970	250	250	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_50	4,970	250	250	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_51	5,268	265	235	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_52	5,467	275	225	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_53	5,467	275	225	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_54	6,362	320	180	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_55	6,461	325	175	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_56	6,461	325	175	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_57	7,554	380	120	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_58	8,946	450	50	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_59	8,946	450	50	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_60	9,443	475	25	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

**Anhang 25 (Fortsetzung):** Carboplatin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Carbo-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
CarboCell-Glucose_Sample_61	0,199	10	490	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_62	0,199	10	490	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_63	0,696	35	465	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_64	1,491	75	425	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_65	1,690	85	415	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_66	1,789	90	410	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_67	1,889	95	405	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_68	1,988	100	400	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_69	1,988	100	400	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_70	2,087	105	395	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_71	2,783	140	360	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_72	2,783	140	360	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_73	2,982	150	350	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_74	3,678	185	315	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_75	3,976	200	300	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_76	4,771	240	260	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_77	4,970	250	250	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_78	4,970	250	250	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_79	5,069	255	245	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_80	5,666	285	215	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_81	5,765	290	210	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_82	5,964	300	200	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_83	6,759	340	160	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_84	7,455	375	125	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_85	7,753	390	110	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_86	7,853	395	105	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_87	7,952	400	100	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_88	8,946	450	50	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_89	8,946	450	50	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_90	9,542	480	20	28.07.2016	6D103F6 (08/17)	15K03E4Z (10/17)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

## Anhang 25 (Fortsetzung): Carboplatin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Carbo-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
CarboCell-Glucose_Sample_91	0,199	10	490	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_92	0,199	10	490	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_93	0,995	50	450	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_94	0,995	50	450	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_95	1,095	55	445	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_96	1,194	60	440	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_97	1,214	61	439	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_98	1,294	65	435	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_99	1,393	70	430	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_100	1,990	100	400	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_101	1,990	100	400	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_102	2,289	115	385	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_103	3,085	155	345	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_104	3,284	165	335	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_105	3,682	185	315	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_106	3,980	200	300	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_107	4,179	210	290	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_108	4,776	240	260	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_109	4,876	245	255	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_110	4,975	250	250	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_111	4,975	250	250	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_112	6,866	345	155	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_113	6,965	350	150	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_114	6,965	350	150	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_115	8,159	410	90	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_116	8,656	435	65	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_117	8,855	445	55	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_118	9,154	460	40	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_119	8,955	450	50	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_120	8,955	450	50	11.08.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

## Anhang 25 (Fortsetzung): Carboplatin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)



## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml) *	Volumen Carbo-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
CarboCell-Glucose_Sample_121	0,199	10	490	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_122	0,199	10	490	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_123	0,299	15	485	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_124	0,498	25	475	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_125	0,597	30	470	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_126	0,796	40	460	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_127	0,896	45	455	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_128	0,995	50	450	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_129	1,194	60	440	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_130	1,294	65	435	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_131	1,393	70	430	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_132	1,493	75	425	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_133	1,692	85	415	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_134	1,692	85	415	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_135	1,990	100	400	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_136	1,990	100	400	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_138	2,488	125	375	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_139	2,488	125	375	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_140	2,587	130	370	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_141	2,886	145	355	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_142	4,975	250	250	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_143	4,975	250	250	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_144	5,373	270	230	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_145	6,269	315	185	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_146	8,358	420	80	01.09.2016	5K097L5 (03/17)	16A17L40 (12/17)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

**Anhang 25 (Fortsetzung):** Carboplatin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl_Sample_1	2	25	475	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_2	4	50	450	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_3	6	75	425	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_4	8	100	400	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_5	10	125	375	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_6	12	150	350	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_7	14	175	325	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_8	16	200	300	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_9	18	225	275	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_10	22	275	225	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_11	24	300	200	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_12	26	325	175	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_13	28	350	150	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_14	30	375	125	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_15	32	400	100	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_16	34	425	75	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_17	36	450	50	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_18	38	475	25	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_19	40	500	0	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_20	1	12,5	487,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_21	3	37,5	462,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_22	5	62,5	437,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_23	7	87,5	412,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_24	9	112,5	387,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_25	11	137,5	362,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_26	13	162,5	337,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_27	15	187,5	312,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_28	17	212,5	287,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_29	19	237,5	262,5	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_30	20	250	250	02.06.2016	FW1836 (09/17)	D9996 (09/20)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

## Anhang 26: Gemcitabin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl_Sample_31	0,401	5	495	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_32	0,401	5	495	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_33	0,802	10	490	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_34	0,802	10	490	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_35	2,406	30	470	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_36	6,817	85	415	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_37	8,02	100	400	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_38	8,421	105	395	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_39	8,421	105	395	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_40	10,025	125	375	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_41	12,03	150	350	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_42	12,03	150	350	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_43	15,639	195	305	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_44	16,04	200	300	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_45	17,644	220	280	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_46	18,847	235	265	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_47	20,05	250	250	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_48	20,05	250	250	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_49	20,05	250	250	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_50	21,654	270	230	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_51	28,07	350	150	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_52	30,075	375	125	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_53	34,085	425	75	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_54	35,689	445	55	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_55	36,09	450	50	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_56	36,491	455	45	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_57	37,293	465	35	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_58	38,095	475	25	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_59	38,095	475	25	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_60	38,095	475	25	14.07.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

## Anhang 26 (Fortsetzung): Gemcitabin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl_Sample_61	0,802	10	490	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_62	0,802	10	490	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_63	0,802	10	490	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_64	2,807	35	465	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_65	3,609	45	455	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_66	4,01	50	450	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_67	4,812	60	440	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_68	5,614	70	430	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_69	8,421	105	395	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_70	8,421	105	395	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_71	8,421	105	395	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_72	13,634	170	330	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_73	15,238	190	310	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_74	16,441	205	295	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_75	17,243	215	285	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_76	17,644	220	280	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_77	18,045	225	275	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_78	20,05	250	250	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_79	20,05	250	250	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_80	24,862	310	190	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_81	26,466	330	170	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_82	28,07	350	150	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_83	28,872	360	140	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_84	31,679	395	105	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_85	32,08	400	100	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_86	35,288	440	60	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_87	36,892	460	40	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_88	38,095	475	25	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_89	38,095	475	25	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)
GemciHexal-NaCl_Sample_90	38,897	485	15	28.07.2016	GC0106 (12/17)	16A19L40 (12/17)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

## Anhang 26 (Fortsetzung): Gemcitabin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl_Sample_91	0,802	10	490	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_92	1,203	15	485	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_93	2,005	25	475	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_94	4,812	60	440	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_95	6,416	80	420	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_96	8,02	100	400	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_97	8,822	110	390	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_98	10,025	125	375	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_99	10,426	130	370	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_100	11,629	145	355	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_101	12,832	160	340	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_102	18,045	225	275	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_103	19,248	240	260	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_104	19,649	245	255	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_105	20,852	260	240	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_106	22,456	280	220	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_107	22,857	285	215	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_108	24,06	300	200	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_109	26,867	335	165	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_110	27,268	340	160	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_111	30,075	375	125	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_112	30,877	385	115	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_113	32,08	400	100	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_114	32,481	405	95	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_115	32,882	410	90	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_116	34,887	435	65	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_117	37,694	470	30	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_118	38,496	480	20	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_119	39,298	490	10	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_120	40,1	500	0	04.08.2016	GC0106 (12/17)	D9997 (09/20)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

## Anhang 26 (Fortsetzung): Gemcitabin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl_Sample_121	0,403	5	495	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_122	0,806	10	490	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_123	1,209	15	485	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_124	1,209	15	485	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_125	1,612	20	480	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_126	2,015	25	475	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_127	2,418	30	470	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_128	3,224	40	460	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_129	4,433	55	445	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_130	4,836	60	440	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_131	6,045	75	425	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_132	7,254	90	410	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_133	8,06	100	400	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_134	9,269	115	385	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_135	10,881	135	365	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_136	13,299	165	335	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_137	14,105	175	325	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_138	15,314	190	310	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_139	16,12	200	300	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_140	18,135	225	275	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_141	20,553	255	245	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_142	20,956	260	240	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_143	23,374	290	210	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_144	23,777	295	205	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_145	25,389	315	185	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_146	26,195	325	175	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_147	33,852	420	80	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_148	35,464	440	60	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_149	36,27	450	50	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_150	37,479	465	35	21.09.2016	GE3582 (01/18)	E0250 (03/21)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert jeder Charge

## Anhang 26 (Fortsetzung): Gemcitabin-Proben für die Methodenentwicklung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux-NaCl Sample 167	0,2	20	480	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 168	0,2	20	480	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 169	0,2	20	480	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 170	0,2	20	480	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 171	0,2	20	480	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 172	3	300	200	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 173	3	300	200	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 174	3	300	200	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 175	3	300	200	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 176	3	300	200	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 177	1,5	150	350	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 178	1,5	150	350	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 179	1,5	150	350	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 180	1,5	150	350	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 181	1,5	150	350	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 182	4,9	490	10	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 183	4,9	490	10	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 184	4,9	490	10	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 185	4,9	490	10	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 186	4,9	490	10	04.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 187	0,2	20	480	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 188	0,2	20	480	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 189	0,2	20	480	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 190	0,2	20	480	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 191	0,2	20	480	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 192	3	300	200	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 193	3	300	200	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 194	3	300	200	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 195	3	300	200	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 196	3	300	200	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)

**Anhang 27:** unabhängige Cetuximab-Proben für die externe Methodenvvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux-NaCl Sample 197	1,5	150	350	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 198	1,5	150	350	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 199	1,5	150	350	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 200	1,5	150	350	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 201	1,5	150	350	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 202	4,9	490	10	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 203	4,9	490	10	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 204	4,9	490	10	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 205	4,9	490	10	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 206	4,9	490	10	11.08.2016	BS-111072 (09/19)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 207	0,4	40	460	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 208	0,4	40	460	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 209	0,4	40	460	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 210	0,4	40	460	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 211	0,4	40	460	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 212	0,8	80	420	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 213	0,8	80	420	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 214	0,8	80	420	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 215	0,8	80	420	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 216	0,8	80	420	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 217	1,2	120	380	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 218	1,2	120	380	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 219	1,2	120	380	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 220	1,2	120	380	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 221	1,2	120	380	03.11.2016	210051 (10/18)	E0249 (03/21)
Erbitux-NaCl Sample 222	0,4	40	460	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 223	0,4	40	460	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 224	0,4	40	460	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 225	0,4	40	460	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbitux-NaCl Sample 226	0,4	40	460	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)

**Anhang 27 (Fortsetzung):** unabhängige Cetuximab-Proben für die externe  
Methodenvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)



## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbix (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbix- NaCl Sample 227	0,8	80	420	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbix- NaCl Sample 228	0,8	80	420	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbix- NaCl Sample 229	0,8	80	420	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbix- NaCl Sample 230	0,8	80	420	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbix- NaCl Sample 231	0,8	80	420	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbix- NaCl Sample 232	1,2	120	380	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbix- NaCl Sample 233	1,2	120	380	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbix- NaCl Sample 234	1,2	120	380	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbix- NaCl Sample 235	1,2	120	380	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)
Erbix- NaCl Sample 236	1,2	120	380	18.11.2016	216179 (03/20)	D9997 (09/20)

**Anhang 27 (Fortsetzung):** unabhängige Cetuximab-Proben für die externe  
Methodenvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin-NaCl Sample_152	0,5	10	490	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_153	0,5	10	490	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_154	0,5	10	490	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_155	0,5	10	490	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_156	0,5	10	490	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_157	9	180	320	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_158	9	180	320	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_159	9	180	320	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_160	9	180	320	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_161	9	180	320	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_162	17	340	160	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_163	17	340	160	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_164	17	340	160	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_165	17	340	160	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_166	17	340	160	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_167	24	480	20	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_168	24	480	20	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_169	24	480	20	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_170	24	480	20	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_171	24	480	20	11.08.2016	B8006H03 (06/17)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl Sample_172	0,5	10	490	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl Sample_173	0,5	10	490	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl Sample_174	0,5	10	490	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl Sample_175	0,5	10	490	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl Sample_176	0,5	10	490	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl Sample_177	9	180	320	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl Sample_178	9	180	320	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl Sample_179	9	180	320	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl Sample_180	9	180	320	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl Sample_181	9	180	320	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)

**Anhang 28:** unabhängige Bevacizumab-Proben für die externe Methodenvvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin-NaCl_Sample_182	17	340	160	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_183	17	340	160	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_184	17	340	160	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_185	17	340	160	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_186	17	340	160	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_187	24	480	20	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_188	24	480	20	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_189	24	480	20	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_190	24	480	20	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_191	24	480	20	01.09.2016	B8019H02 (10/17)	E0250 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_192	1,5	30	470	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_193	1,5	30	470	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_194	1,5	30	470	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_195	1,5	30	470	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_196	1,5	30	470	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_197	3,5	70	430	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_198	3,5	70	430	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_199	3,5	70	430	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_200	3,5	70	430	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_201	3,5	70	430	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_202	5	100	400	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_203	5	100	400	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_204	5	100	400	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_205	5	100	400	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_206	5	100	400	03.11.2016	B8018H03 (10/17)	E0249 (03/21)
Avastin-NaCl_Sample_207	1,5	30	470	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_208	1,5	30	470	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_209	1,5	30	470	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_210	1,5	30	470	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin-NaCl_Sample_211	1,5	30	470	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)

**Anhang 28 (Fortsetzung):** unabhängige Bevacizumab-Proben für die externe  
Methodenvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin- NaCl_Sample_212	3,5	70	430	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_213	3,5	70	430	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_214	3,5	70	430	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_215	3,5	70	430	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_216	3,5	70	430	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_217	5	100	400	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_218	5	100	400	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_219	5	100	400	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_220	5	100	400	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)
Avastin- NaCl_Sample_221	5	100	400	17.11.2016	B7226H03 (04/18)	D9997 (09/20)

**Anhang 28 (Fortsetzung):** unabhängige Bevacizumab-Proben für die externe  
Methodenvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml) *	Volumen Carbo-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
CarboCell-Glucose_Sample_151	0,1980	10	490	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_152	0,1980	10	490	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_153	0,1980	10	490	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_154	0,1980	10	490	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_155	0,1980	10	490	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_156	3,5640	180	320	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_157	3,5640	180	320	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_158	3,5640	180	320	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_159	3,5640	180	320	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_160	3,5640	180	320	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_161	5,9400	300	200	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_162	5,9400	300	200	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_163	5,9400	300	200	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_164	5,9400	300	200	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_165	5,9400	300	200	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_166	9,7020	490	10	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_167	9,7020	490	10	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_168	9,7020	490	10	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_169	9,7020	490	10	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_170	9,7020	490	10	21.09.2016	6G104H6 (11/17)	16A17L40 (12/17)
CarboCell-Glucose_Sample_171	0,1994	10	490	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_172	0,1994	10	490	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_173	0,1994	10	490	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_174	0,1994	10	490	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_175	0,1994	10	490	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_176	3,5892	180	320	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_177	3,5892	180	320	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_178	3,5892	180	320	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_179	3,5892	180	320	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_180	3,5892	180	320	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert des FAM

**Anhang 29:** unabhängige Carboplatin-Proben für die externe Methodenvvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Carbo-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
CarboCell-Glucose_Sample_181	5,9820	300	200	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_182	5,9820	300	200	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_183	5,9820	300	200	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_184	5,9820	300	200	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_185	5,9820	300	200	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_186	9,7706	490	10	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_187	9,7706	490	10	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_188	9,7706	490	10	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_189	9,7706	490	10	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_190	9,7706	490	10	24.10.2016	6H107K6 (12/17)	15L07E7S (11/17)
CarboCell-Glucose_Sample_191	0,7920	40	460	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_192	0,7920	40	460	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_193	0,7920	40	460	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_194	0,7920	40	460	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_195	0,7920	40	460	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_196	1,5840	80	420	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_197	1,5840	80	420	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_198	1,5840	80	420	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_199	1,5840	80	420	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_200	1,5840	80	420	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_201	2,3760	120	380	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_202	2,3760	120	380	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_203	2,3760	120	380	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_204	2,3760	120	380	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_205	2,3760	120	380	03.11.2016	6G104H6 (11/17)	16E19L01 (04/18)
CarboCell-Glucose_Sample_206	0,7960	40	460	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_207	0,7960	40	460	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_208	0,7960	40	460	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_209	0,7960	40	460	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_210	0,7960	40	460	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert des FAM

**Anhang 29 (Fortsetzung): unabhängige Carboplatin-Proben für die externe  
Methodenvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)**

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml) *	Volumen Carbo-Cell (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
CarboCell-Glucose_Sample_211	1,5920	80	420	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_212	1,5920	80	420	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_213	1,5920	80	420	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_214	1,5920	80	420	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_215	1,5920	80	420	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_216	2,3880	120	380	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_217	2,3880	120	380	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_218	2,3880	120	380	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_219	2,3880	120	380	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)
CarboCell-Glucose_Sample_220	2,3880	120	380	18.11.2016	5K097L5 (03/17)	15K03E4Z (10/17)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert des FAM

**Anhang 29 (Fortsetzung):** unabhängige Carboplatin-Proben für die externe Methodenvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl_Sample_151	0,808	10	490	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_152	0,808	10	490	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_153	0,808	10	490	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_154	0,808	10	490	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_155	0,808	10	490	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_156	8,484	105	395	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_157	8,484	105	395	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_158	8,484	105	395	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_159	8,484	105	395	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_160	8,484	105	395	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_161	20,2	250	250	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_162	20,2	250	250	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_163	20,2	250	250	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_164	20,2	250	250	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_165	20,2	250	250	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_166	38,38	475	25	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_167	38,38	475	25	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_168	38,38	475	25	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_169	38,38	475	25	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_170	38,38	475	25	20.10.2016	GK2553 (12/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_171	0,804	10	490	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_172	0,804	10	490	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_173	0,804	10	490	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_174	0,804	10	490	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_175	0,804	10	490	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_176	8,442	105	395	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_177	8,442	105	395	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_178	8,442	105	395	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_179	8,442	105	395	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_180	8,442	105	395	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert des FAM

### Anhang 30: unabhängige Gemcitabin-Proben für die externe Methodenvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)



## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl_Sample_181	20,1	250	250	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_182	20,1	250	250	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_183	20,1	250	250	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_184	20,1	250	250	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_185	20,1	250	250	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_186	38,19	475	25	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_187	38,19	475	25	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_188	38,19	475	25	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_189	38,19	475	25	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_190	38,19	475	25	24.10.2016	FW7950AA (09/17)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_191	2,015	25	475	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_192	2,015	25	475	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_193	2,015	25	475	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_194	2,015	25	475	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_195	2,015	25	475	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_196	4,03	50	450	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_197	4,03	50	450	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_198	4,03	50	450	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_199	4,03	50	450	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_200	4,03	50	450	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_201	6,045	75	425	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_202	6,045	75	425	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_203	6,045	75	425	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_204	6,045	75	425	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_205	6,045	75	425	03.11.2016	GE3582 (01/18)	E0249 (03/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_206	2,02	25	475	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_207	2,02	25	475	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_208	2,02	25	475	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_209	2,02	25	475	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl_Sample_210	2,02	25	475	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert des FAM

### Anhang 30 (Fortsetzung): unabhängige Gemcitabin-Proben für die externe Methodenvvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)*	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl Sample 211	4,04	50	450	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl Sample 212	4,04	50	450	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl Sample 213	4,04	50	450	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl Sample 214	4,04	50	450	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl Sample 215	4,04	50	450	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl Sample 216	6,06	75	425	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl Sample 217	6,06	75	425	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl Sample 218	6,06	75	425	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl Sample 219	6,06	75	425	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)
GemciHexal-NaCl Sample 220	6,06	75	425	17.11.2016	GK2553 (03/18)	D9997 (09/20)

\* korrigiert entsprechend dem tatsächlichen Gehaltswert des FAM

**Anhang 30 (Fortsetzung):** unabhängige Gemcitabin-Proben für die externe Methodenvalidierung mit Vertex 70 FT-NIR-Spektrometer (Bruker)

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Erbitux (5 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Erbitux-NaCl_Sample_1	1	200	800	10.01.2017	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_2	1,1	220	780	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_3	1,2	240	760	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_4	1,4	280	720	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_5	1,5	300	700	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_6	1,6	320	680	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_7	1,8	360	640	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_8	1,9	380	620	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_9	2	400	600	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_10	2,1	420	580	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_11	2,3	460	540	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_12	2,5	500	500	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_13	2,6	520	480	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_14	2,7	540	460	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_15	2,8	560	440	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_16	3	600	400	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_17	3,1	620	380	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_18	3,3	660	340	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_19	3,4	680	320	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_20	3,5	700	300	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_21	3,7	740	260	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_22	3,9	780	220	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_23	4	800	200	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_24	4,2	840	160	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_25	4,3	860	140	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_26	4,5	900	100	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_27	4,6	920	80	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_28	4,8	960	40	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_29	4,9	980	20	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)
Erbitux-NaCl_Sample_30	5	1000	0	10.01.201	22238 (07/20)	E0485 (10/21)

**Anhang 31:** Cetuximab-Proben für Testmessungen durch das Material der Infusionsbeutel mit der Infusionsbeutel-Messvorrichtung

## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Carbomedac (10 mg/ml) in µl	Volumen Glucose 5 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Carbomedac-G5% Sample_1	0,25	25	975	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_2	0,5	50	950	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_3	0,75	75	925	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_4	1	100	900	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_5	1,25	125	875	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_6	1,5	150	850	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_7	1,75	175	825	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_8	2	200	800	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_9	2,25	225	775	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_10	2,5	250	750	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_11	2,75	275	725	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_12	3	300	700	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_13	3,25	325	675	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_14	3,5	350	650	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_15	3,75	375	625	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_16	4	400	600	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_17	4,25	425	575	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_18	4,5	450	550	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_19	4,75	475	525	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_20	5	500	500	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_21	5,5	550	450	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_22	6	600	400	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_23	6,5	650	350	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_24	7	700	300	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_25	7,5	750	250	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_26	8	800	200	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_27	8,5	850	150	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_28	9	900	100	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_29	9,5	950	50	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)
Carbomedac-G5% Sample_30	10	1000	0	19.01.2017	6H107K6 (12/17)	160758091 (01/19)

**Anhang 32:** Carboplatin-Proben für Testmessungen durch das Material der Infusionsbeutel mit der Infusionsbeutel-Messvorrichtung

## Anhang

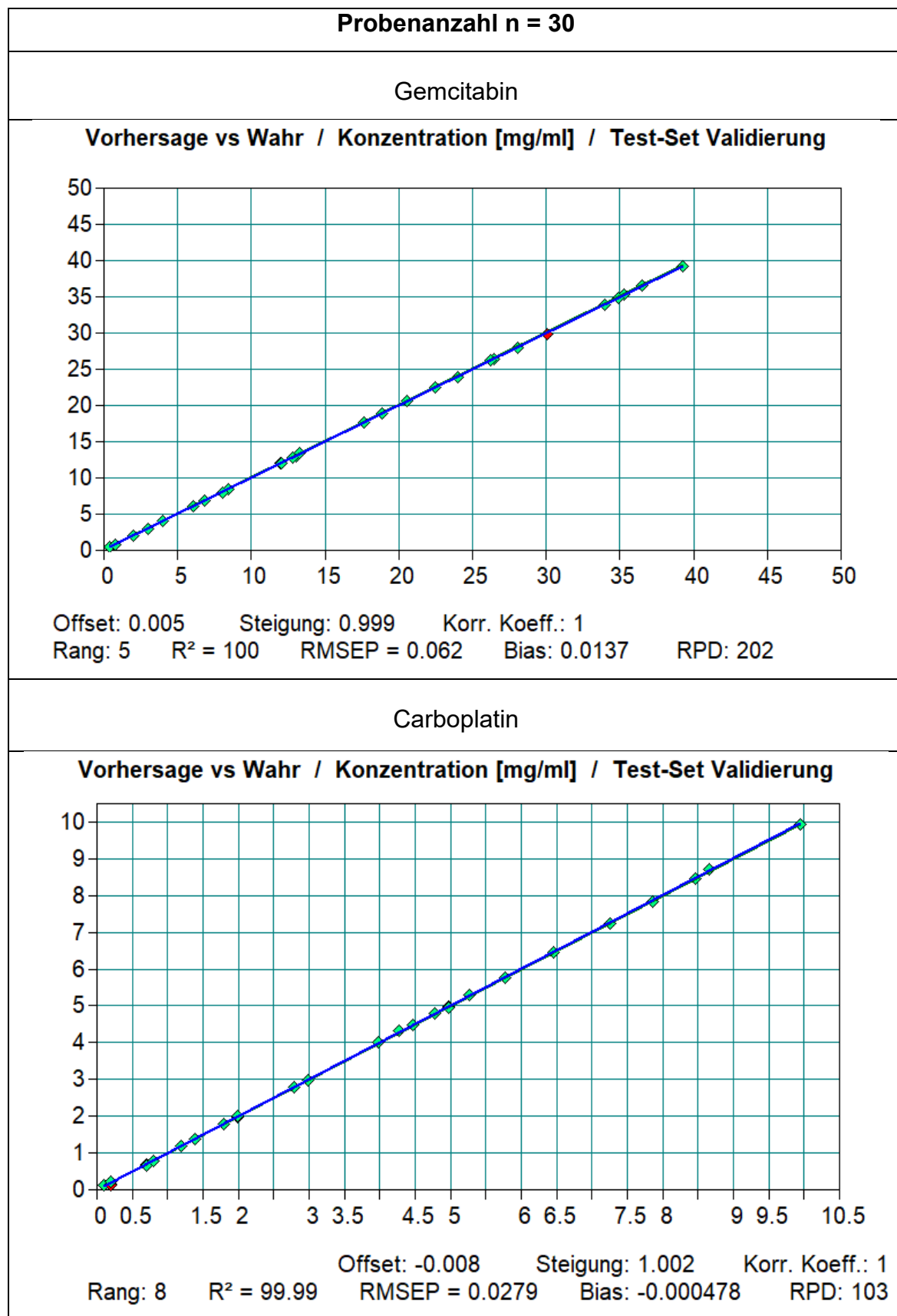
Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Avastin (25 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
Avastin-NaCl_Sample_1	1	40	960	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_2	2	80	920	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_3	3	120	880	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_4	4	160	840	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_5	5	200	800	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_6	6	240	760	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_7	7	280	720	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_8	8	320	680	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_9	8,5	340	660	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_10	9	360	640	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_11	9,5	380	620	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_12	10	400	600	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_13	10,5	420	580	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_14	11	440	560	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_15	11,5	460	540	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_16	12	480	520	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_17	12,5	500	500	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_18	13	520	480	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_19	14	560	440	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_20	15	600	400	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_21	16	640	360	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_22	17	680	320	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_23	18	720	280	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_24	19	760	240	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_25	20	800	200	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_26	21	840	160	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_27	22	880	120	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_28	23	920	80	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_29	24	960	40	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)
Avastin-NaCl_Sample_30	25	1000	0	19.01.2017	B7231H05 (06/18)	E0485 (10/21)

**Anhang 33:** Bevacizumab-Proben für Testmessungen durch das Material der Infusionsbeutel mit der Infusionsbeutel-Messvorrichtung

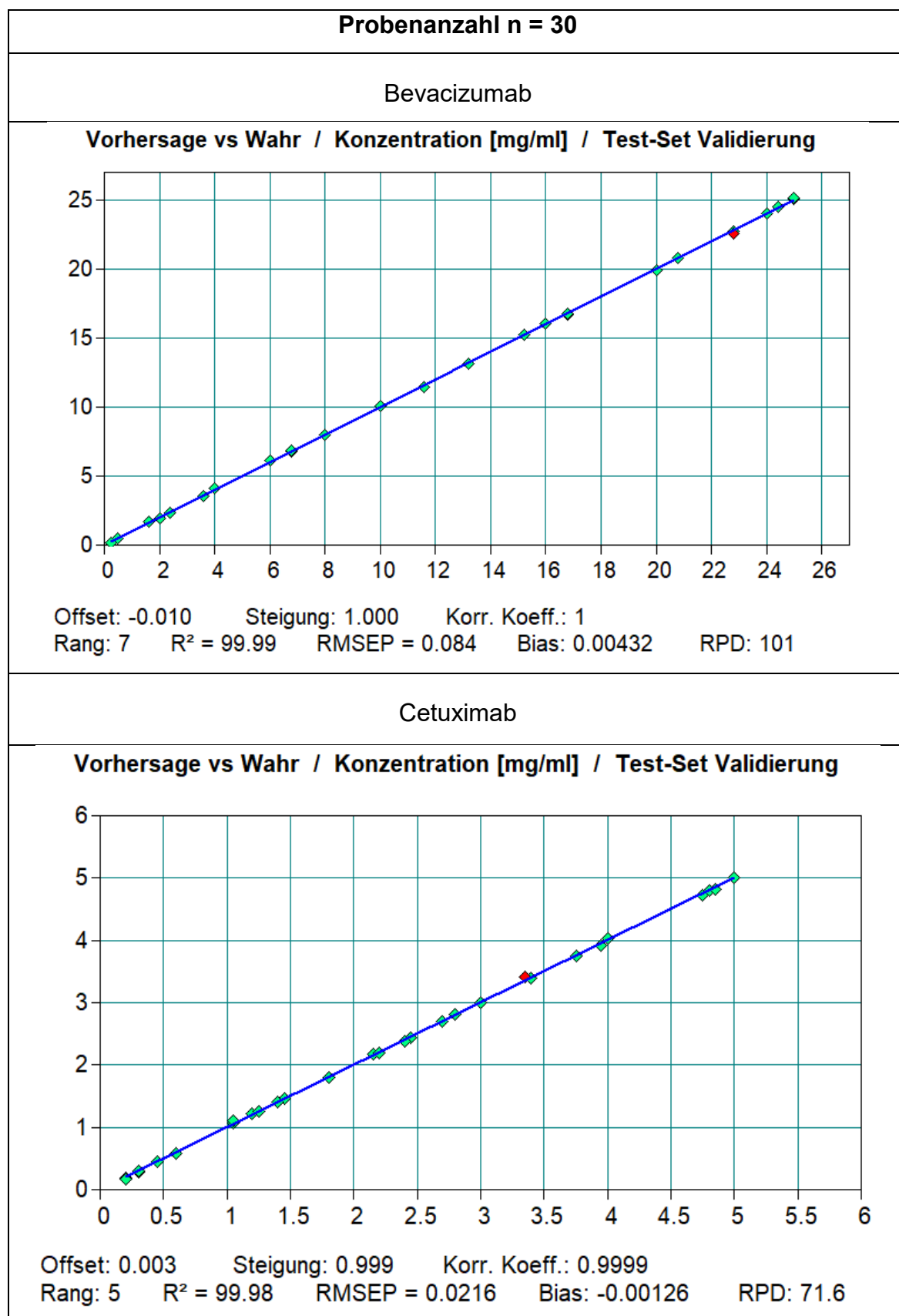
## Anhang

Probenname	Konzentration (mg/ml)	Volumen Gemcitabin Hexal (40 mg/ml) in µl	Volumen NaCl 0,9 % in µl	Datum	Charge (Verfall) Wirkstoff	Charge (Verfall) Trägerlösung
GemciHexal-NaCl_Sample_1	1	25	975	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_2	2	50	950	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_3	3	75	925	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_4	4	100	900	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_5	5	125	875	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_6	6	150	850	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_7	7	175	825	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_8	8	200	800	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_9	9	225	775	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_10	10	250	750	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_11	11	275	725	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_12	12	300	700	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_13	13	325	675	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_14	14	350	650	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_15	15	375	625	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_16	16	400	600	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_17	17	425	575	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_18	18	450	550	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_19	19	475	525	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_20	20	500	500	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_21	22	550	450	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_22	24	600	400	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_23	26	650	350	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_24	28	700	300	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_25	30	750	250	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_26	32	800	200	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_27	34	850	150	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_28	36	900	100	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_29	38	950	50	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)
GemciHexal-NaCl_Sample_30	40	1000	0	19.01.2017	GL2108 (05/18)	E0485 (10/21)

**Anhang 34:** Gemcitabin-Proben für Testmessungen durch das Material der Infusionsbeutel mit der Infusionsbeutel-Messvorrichtung



**Anhang 35:** Vorhersage/Wahr-Plots der Test-Set Validierungen für die Methodenentwicklung



**Anhang 35 (Fortsetzung):** Vorhersage/Wahr-Plots der Test-Set-Validierungen für die Methodenentwicklung



**Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die geltende Promotionsordnung der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät der FSU Jena bekannt ist. Ich habe die Dissertation selbstständig angefertigt, keine Textabschnitte eines Dritten oder eigener Prüfungsarbeiten ohne Kennzeichnung übernommen und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in der Arbeit angegeben. Personen, die mich bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben, wurden entsprechend genannt. Ich habe keine Hilfe eines Promotionsberaters in Anspruch genommen und Dritten weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten gewährt, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Dissertation wurde nicht bereits zuvor als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht oder die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht.

Dresden, den 15.03.2019

## **Danksagung**

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 2014 bis Januar 2019 unter Anleitung von Herrn PD Dr. Seeling und Herrn Dr. H. Knoth am Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Dresden durchgeführt.

An dieser Stelle möchte ich dem Leiter der Klinik-Apotheke, Herrn Dr. H. Knoth, für die Überlassung des interessanten Themas, des Arbeitsplatzes, der finanziellen Unterstützung und der Möglichkeit, diese Arbeit berufsbegleitend anzufertigen, bedanken.

Bei Herrn PD Dr. A. Seeling bedanke ich mich herzlich für die wissenschaftliche Begleitung dieser Arbeit, die wertvollen Hinweise und Ratschläge sowie für das mir entgegengebrachte Vertrauen. Dies gewährte mir einen großen Freiraum bei der Durchführung meiner Untersuchungen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. G. Steiner aus der Arbeitsgruppe Klinisches Sensoring und Monitoring der TU Dresden, der durch das zur Verfügung stellen eines FT-NIR-Spektrometers und vielen fachlichen Ratschlägen sowie Hilfestellungen einen großen Anteil an der Vollendung dieser Arbeit hat.

Mein weiterer Dank gilt den Mitarbeitern der AG Klinisches Sensoring und Monitoring der TU Dresden für die Unterstützung bei der Arbeit mit dem FT-NIR-Spektrometer und den Mitarbeitern der HiperScan GmbH für die freundliche Kooperation, die Überlassung des Apo-Ident NIR-Spektrometers für die Messungen als auch die vielen fachlichen und technischen Diskussionen.

Bei allen Kolleginnen und Kollegen der Klinik-Apotheke bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit und die stete Hilfsbereitschaft. Insbesondere gilt hier mein Dank den Mitarbeitern aus den Bereichen Arzneimittelherstellung und Qualitätskontrolle. Danken möchte ich meinem Kollegen Dr. Peter Gärtner, der einige Höhen und Tiefen dieser Arbeit miterlebt und immer hilfreich zur Seite gestanden hat.

Mein ganz besonderer Dank geht an meine Familie insbesondere an meine Frau Annemarie, die mir während dieser Zeit mit Rat und Tat, viel Geduld und Verständnis zur Seite standen und meine größte Motivation waren.